

PHYSIOLOGISCHE WAARDEBEPALINGEN VAN GENEESMIDDELEN.

W. STORM VAN LEEUWEN.

Physiologische waardebepalingen van geneesmiddelen.

PHYSIOLOGISCHE WAARDEBEPALINGEN VAN GENEESMIDDELEN

EN

METHODEN TOT HET ONDERZOEKEN VAN DE WERKZAAMHEID VAN MENGSELS VAN NARCOTICA EN VAN LOCAALANAESTHETICA.

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKSUNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS DR. G. W. KERNKAMP, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE, VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN OP DINSDAG 11 MAART 1919 DES NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

WILLEM STORM VAN LEEUWEN, ARTS
GEBOREN TE KAMPEN.

HAARLEM. — DE ERVEN F. BOHN. — 1919.

[illegible]

Nu de wet „Limburg” mij de gelegenheid verschaft te promoveeren, is mij daarmede tevens een welkome aanleiding geboden om aan allen, die mij gedurende mijn studie en ook daarna op zoo ruime wijze zijn behulpzaam geweest, daarvoor mijn oprechten dank te betuigen.

In het bijzonder wil ik mij het voorrecht verschaffen om uiting te geven aan den grooten eerbied, dien ik gevoel voor U, Hooggeleerden Pekelharing. In hooge mate heb ik het op prijs gesteld, dat ik geruimen tijd met U heb mogen samenwerken en voortdurend bewijzen van Uw vriendschap heb mogen ontvangen.

Een moeilijke taak zou het zijn om het vele op te sommen, wat ik aan U, Hooggeachten Promotor, Hooggeleerden Magnus, verschuldigd ben. Jaren lang in Uw instituut te hebben gewerkt en daarbij te hebben geprofiteerd van Uw buitengemeen groote kennis, van Uw verwonderlijk groote belezenheid en vooral ook van Uw raad die ons nooit wordt opgedrongen, maar steeds ter onzer beschikking is, is op zichzelf al een groot voorrecht. Door de vriendschappelijke toon, die steeds het kenmerk van onzen omgang was, werd het werken in Uw instituut voor mij een waar genot.

Wat ik daarnaast wel het meest heb geapprecieerd, is Uw breede opvatting van Uw taak als leider van het Instituut, waardoor Gij aan Uw medewerkers een zoo groote mate van zelfstandigheid en vrijheid laat, als maar eenigszins mogelijk is.

En dat Gij er in slaagdet om na een langdurige afwezigheid de leiding van het instituut weer op zulk een wijze van mij over te nemen, dat de vroegere verhoudingen hersteld werden zonder dat dit ook maar in een enkel opzicht onaangenaam voor mij kon zijn, heeft mij misschien wel het meest getroffen.

Zeer veel dank ben ik ook verschuldigd aan U, de Kleijn, Le Heux, Mej. v. d. Made en Mej. v. d. Broeke voor de vele vriendschap en hulp, die ik van U ondervond en voor de buitengewoon aangename wijze, waarop gij steeds met mij hebt willen samenwerken.

Zeer ondankbaar zou het zijn indien ik — hen gedenkend, die gedurende mijn universitaire opleiding mij behulpzaam waren — niet ook een woord van hartelijken dank wijdde aan mijn vriend, ritmeester Pabst, die in een vroegere periode van mijn leven jaren lang mijn leidsman was en mij ook daarna nog zoo herhaaldelijk terzijde stond.

INHOUD.

HOOFDSTUK VI

blz.

HOOFDSTUK VII

HOOFDSTUK VIII

INLEIDING.

Een van de eerste eischen, die de arts moet stellen aan een goed geneesmiddel is, dat het een constante samenstelling heeft. Aan dezen — zoo eenvoudigen — eisch voldeden tot voor korten tijd een aantal der meest gebruikte geneesmiddelen niet en zij konden dat ook niet, omdat men niet over voldoende chemische methoden beschikte, om de hoeveelheid werkzame stof, die deze geneesmiddelen bevatten, nauwkeurig te bepalen. Waar de scheikundige methoden te kort schoten, heeft men naar andere omgezien en nu bleek, — eerst in een enkel, later in meerdere gevallen — dat men met physiologische methoden zijn doel kon bereiken. Onder een physiologische methode wordt verstaan een methode, waarbij de sterkte van het geneesmiddel wordt beoordeeld door de werking ervan na te gaan op een dier of op een dierlijk orgaan.

In de laatste jaren is het aantal geneesmiddelen, dat met physiologische methoden kan worden bepaald, zeer sterk toegenomen en steeds meer breidt zich de belangstelling in het onderdeel der pharmacologie, dat zich met de physiologische waardebepalingen bezig houdt, uit. Bij voortduring worden nieuwe vraagpunten gesteld, worden nieuwe methoden gevonden, oude verbeterd of vervangen. Een toestand van rust is daarbij nog geenszins bereikt, op schier elk gebied heerscht nog leven en bedrijvigheid, in vele gevallen bestaat groot verschil tusschen verschillende onderzoekers omtrent de juistheid der methoden.

Toch komt het mij nuttig voor, reeds nu een critisch overzicht te geven over dat, wat in dezen jongen tak van wetenschap tot nu toe is bereikt. De stof is nu nog door één persoon te overzien, maar alles wat over de physiologische waardebepalingen in de literatuur vermeld is, staat in zooveel verschillende boeken en tijdschriften verspreid, dat het voor hem, die thans begint zich op deze zaken toe te leggen reeds moeilijk wordt zich de juiste en nieuwste gegevens te verschaffen. En wijl ik nu in de laatste jaren in de gelegenheid was over een aantal physiologische methoden eigen ervaring te verzamelen, waar bovendien gebleken is, dat ook in ons land in den laatsten tijd de belangstelling in de biologische metho-

den toeneemt, waar zij reeds op tal van gebieden in gebruik zijn genomen, en waar verwacht mag worden, dat in de in bewerking zijnde nieuwe uitgave van de pharmacopee met de physiologische methoden op zijn minst rekening zal worden gehouden, daar meende ik dat het zijn nut kon hebben een overzicht te geven van wat thans is bereikt.

Volkomen bewust ben ik mij ervan, dat het geven van een afgesloten geheel onmogelijk is ; ik kan slechts trachten te geven den stand van de vraagstukken zooals die thans — eind 1918 — is. Over korten tijd zullen op vele punten de opvattingen veranderd zijn, en zullen vooral ook nieuwe gebieden zijn ontsloten.

Want vele vragen zijn er nog in dit jonge vak, die dringen naar oplossing.

Maar juist het zoo scherp mogelijk omschrijven van datgene wat *wel* bereikt is, kan ertoe leiden om duidelijk te overzien het vele, dat nog *niet* bereikt is en toch noodzakelijkerwijs bereikt moet worden. Wellicht is dit — het aangeven van het vele wat nog ontbreekt — de belangrijkste taak.

* * *

Voordat de verschillende methoden van physiologische waardebepalingen worden besproken is het noodig na te gaan in welke gevallen deze methoden moeten of kunnen worden gebruikt.

I. Het meest eenvoudige geval doet zich ongetwijfeld voor, indien de werkzame bestanddeelen van een geneesmiddel, van een galenisch praeparaat bijv. niet of althans niet alle chemisch bekend zijn. Voorbeelden hiervan zijn er vele. De werkzame stoffen van *secale cornutum* zijn niet voldoende bekend, de Ned. pharmacopee Ed. IV geeft geen enkele aanwijzing omtrent een bepaling van de sterkte der secalepraeparaten. En dat de sterkte van secalepraeparaten van verschillende herkomst zoo sterk kunnen verschillen dat het ééne 30 × zoo sterk werkte als het andere, is gebleken [1]).

Voor de folia *digitalis* is de toestand ongeveer dezelfde. Wel is een der werkzame bestanddeelen n.l. het digitoxine bekend en kan zelfs de hoeveelheid daarvan met chemische methode voldoende nauwkeurig worden bepaald, maar het digitoxine is niet het eenige en zelfs niet het gewichtigste bestanddeel der digitalisbladen. Naast het digitoxine komt het gitaline en het digitaleine voor en voor deze beide stoffen bestaat nog geen practisch bruikbare quantitatieve chemische methode.

De Nederlandsche pharmacopee Ed. IV geeft wel aanwijzingen omtrent de soort en herkomst der bladen en omtrent het tijdstip

1) W. Storm van Leeuwen. Over het verschil in werkzaamheid van secalepreparaten van verschillende herkomst. Ned. Tijdschr. v. geneesk. 1917, 1e helft, pag. 904.

waarop zij moeten worden verzameld, maar een waarborg voor de mate van werkzaamheid ontbreekt. Dit heeft tengevolge, dat volgens mijn ervaring, de valor (over de beteekenis van dit woord zie blz. 27 e.v.) van verschillende in den groothandel aanwezige bladen in de jaren 1916—'18 wisselde van 2,8 tot 4,82. Trouwens nog grootere verschillen komen voor (zie blz. 24).

In het *extractum belladonnae* kan men de verhouding waarin de beide hoofdbestanddeelen, het atropine en het hyoscyamine voorkomen, blijkbaar niet met voldoende nauwkeurigheid bepalen. De Ned. pharmacopee Ed. IV stelt als eisch, dat het totaal gehalte aan alcaloiden minstens 1,15% moet bedragen. Dit gehalte wordt bepaald door na voorafgaande bewerkingen het alcaloide als alkali te titreeren.

Deze methode is principieel onjuist.

Men mag aannemen, dat de voornaamste werkzame bestanddeelen van extractum belladonnae het atropine en het hyoscyamine zijn en dat het totaal alcaloidgehalte dus hoofdzakelijk door het gehalte aan deze beide stoffen zal worden beheerscht. Door onderzoekingen van den laatsten tijd echter moet men het mogelijk achten (onder wordt deze zaak uitvoerig besproken) dat andere, eventueel in *kleine* hoeveelheden aanwezige alcaloiden een grooten invloed op de werkzaamheid van atropine kunnen uitoefenen en is dat het geval, dan is natuurlijk de kennis van het totale alcaloidgehalte geheel onvoldoende om de sterkte van het galenische praeparaat te beoordeelen.

Hierbij komt, dat de pharmacologische werking van atropine en hyoscyamine niet dezelfde is. CUSHNY[1]) heeft dit nauwkeurig onderzocht en daarbij bleek het volgende.

Atropine en l-hyoscyamine hebben eenzelfde werking (ook quantitatief) op het centraalzenuwstelsel bij zoogdieren en op hart en motorische zenuwuiteinden bij den kikvorsch. Op het ruggemerg van den kikvorsch echter heeft atropine een sterker prikkelende werking dan l-hyoscyamine, maar dit laatste is tweemaal meer werkzaam op de zenuwuiteinden in hart, speeksel-klieren en pupil bij zoogdieren dan atropine.

Waar nu juist deze laatste werkingen het meest overeenkomen met de werking die men als regel in de therapie van extr. belladonnae verwacht, daar is duidelijk, dat een bepaling van het totaal alcaloidgehalte van dit extract nooit een maatstaf voor de werking kan zijn, omdat een verandering in de verhouding waarin atropine, l- en d-hyoscyamine in het extract voorkomen, groote verschillen in de werkzaamheid teweeg zou brengen en er is geen enkele reden om te vermoeden dat die verhouding als regel constant zal zijn.

Maar afgescheiden hiervan nog is het in het algemeen zeker ongeoorloofd, om aan te nemen, dat er een vaste verhouding bestaat tusschen de titreerbare alkaliteit van een vloeistof die het totaal der alcaloiden van een bepaalde hoeveelheid extractum belladonnae bevat en de physiologische werking, die die vloei-

---

1) A. R. CUSHNY. Atropine and the hyoscyamines. A study of the action of optical isomeres. Journ. of physiol Vol. XXX, pag. 176 1903.

stof kan uitoefenen. Zeer geringe veranderingen toch in het alcaloidmolecuul kunnen — zonder de titreerbare alkaliteit te wijzigen — groote verschillen in physiologische werking geven.

Wordt b.v. in het morphinemolecuul een kleine wijziging aangebracht door het invoeren van een methylgroep, dan zal de titreerbare alkaliteit niet — of nauwelijks — de pharmacologische werking daarentegen zeer sterk veranderen.

Dat de links- en rechtsdraaiende modificatie van een bepaalde stof, bij absoluut gelijke titreerbare alkaliteit, een geheel verschillende pharmacologische werking kunnen hebben, is bekend.

Bovendien zou ik willen berichten over ervaringen, die opgedaan werden bij het quantitatieve bepalen van nicotine in tabaksrook[1]). Bij dit onderzoek bleek, dat de absolute nicotinewaarden, die ik met een physiologische methode in sigarenrook vond, lager waren dan de waarden, die anderen, HEIMANNSBERG[2]), WARBURG[3]) e. a., gevonden hadden met chemische methoden.

Deze chemische methode bestond hierin, dat na voorafgaande bewerkingen — indampen in zuur milieu, om pyridinebasen enz. te verwijderen — het nicotine als alkali getitreerd werd met een bepaalden indicator. Door contrôleproeven was aangetoond, dat van te voren toegevoegde nicotine, na indampen, nog quantitatief kon worden teruggevonden door titratie.

Bij mijn proeven bleek echter, dat wanneer onder precies dezelfde omstandigheden werd ingedampt, dat dan — met physiologische methode bepaald — de nicotine-oplossing veel minder werkzaam was geworden. Door de bewerking was dus iets aan het nicotinemolecuul veranderd, zoodat de pharmacologische werkzaamheid verminderd, maar de titreerbare alkaliteit onveranderd gebleven was. En om iets dergelijks te bereiken, behoeft zelfs niet het nicotine een chemische bewerking te ondergaan. Reeds door staan aan de lucht wordt de pharmacologische werking gewijzigd zonder dat de titreerbare alkaliteit merkbaar verandert. LE HEUX, Mej. v. D. MADE en ik vonden dat nicotine, dat langer dan een jaar in het laboratorium in een gesloten, slechts ten deele gevulde flesch was bewaard gebleven *minder* giftig was geworden voor duiven bij intramusculaire injectie en 2 × *meer* giftig was geworden voor den overlevenden dunnen darm, maar ongeveer evenveel zuur bond als versche nicotine. Werd n.l. 205 mgr. versche nicotine afgewogen, dan kon door titratie met rosolzuur 206 mgr. worden teruggevonden (fout 0.5%). Werd 209 mgr. oude nicotine genomen, dan werd door titratie gevonden minstens 196 mgr. (de kleuromslag is in de oude bruine nicotineoplossing zeer moeilijk te zien) zoodat het zuurbindend vermogen met hoogstens 6% was verminderd.

Of dit alles nu een rol speelt bij het extractum belladonnae is niet bekend, maar zoolang niet zeker is, dat deze factoren *niet* van invloed zijn m.a.w. zoolang niet bewezen is, dat alcaloidgehalte (bepaald door titratie) en pharmacologische werking parallel gaan, zoolang is de door de pharmacopee aangegeven methode als ondeugdelijk te beschouwen. Helaas geeft de pharmacologie nog geen betere — biologische — methode. Dit is een van de — boven aangeduide — vraagstukken, die dringend een oplossing verlangen.

En dit vraagstuk dringt des te meer, omdat reden bestaat om te vermoeden, dat ondanks het voorschrift der pharmacopee, dat het gehalte aan alcaloiden minstens 1,15% moet bedragen,

---

1) W. STORM VAN LEEUWEN. Over het nicotinegehalte in den rook van zware-, lichte- en nicotinevrije sigaren. Geneesk bladen 19e reeks no. V, pag. 157.

2) HEIMANNSBERG. Inaug. Diss. Würzburg 1906.

3) WARBURG. Inaug. Diss. Würzburg 1906.

extractum belladonnaepraeparaten van verschillende herkomst ongelijk van werking kunnen zijn. Een ervaren clinicus als PEL b.v. zegt (zie zijn leerboek der ziekten van de maag 1913, blz. 102) van het extractum belladonnae ,,.... terwijl de belladonna mij dikwijls een weinig betrouwbaar middel bleek, bovendien veroorzaakt dit laatste bij velen intoxicatieverschijnselen, terwijl de werking van haar praeparaten inconstant is door het wisselende gehalte aan werkzame bestanddeelen".

***

Al deze gevallen — en zeer gemakkelijk kunnen meerdere worden genoemd (canabis indica, aconitinum enz.) — betreffen galenische praeparaten, waarvan de werkzame bestanddeelen òf niet òf niet voldoende chemisch bekend zijn, en waarbij dus een physiologische waardebepaling ongetwijfeld noodig is. Het spreekt vanzelf, dat bij een andere groep van geneesmiddelen — de orgaanpraeparaten — waarvan, met een enkele uitzondering, omtrent de chemische samenstelling nog veel minder bekend is, dan in de eerstgenoemde gevallen — de physiologische methoden voorloopig nog de eenige bruikbare zijn. En dat ook weer orgaanpraeparaten van verschillende herkomst zeer sterk in werkzaamheid kunnen verschillen bleek o.a. uit onderzoekingen van ROMEIS die met physiologische methode verschillende soorten schildkliertabletten onderzocht en zeer groote verschillen in werkzaamheid vond.

Bij een onderzoek naar de werking van eenige hypophysispraeparaten vond ik zelfs groote *qualitatieve* verschillen.

In de tot nu toe genoemde gevallen is de chemische methode onvoldoende, en ligt het dus voor de hand dat een andere methode noodig is. Minder duidelijk is dit in de gevallen, die thans moeten worden besproken.

2. Bij de hier bedoelde geneesmiddelen, waarvan als type het *opium* kan worden gekozen, is weliswaar het hoofdbestanddeel chemisch bekend, kan ook met een scheikundige methode voldoende nauwkeurig worden bepaald, maar is toch die chemische bepaling niet geheel afdoende.

Het *opium* moet volgens de Ned. pharmacopee Ed. IV 9.8 à 10.2% morphine bevatten. De vraag is nu of men zeker is, dat twee opiumpraeparaten, die beide aan dezen eisch voldoen, ook dezelfde pharmacologische werking hebben. Er bestaat voldoende reden om aan te nemen dat dit niet het geval is.

Het morphine is niet het eenige werkzame bestanddeel van opium; naast morphine komen een groot aantal andere alcaloiden voor, weliswaar in — met het oog op de werkzaamheid — geringe concentraties, maar toch zeer zeker in zoodanige hoeveelheden, dat een pharmacologische werking eraan kan worden toegeschreven. Al zeer lang is bekend, dat de werking van opium zich niet geheel dekt met die van het er in voorkomende morphine.

Men kan nu wel hopen, dat de andere alcaloiden die naast morphine in opium voorkomen steeds in een zelfde vorhouding tot het aanwezige morphine aanwezig zullen zijn, maar zekerheid heeft men daaromtrent niet. Integendeel, men heeft de zekerheid, dat dit herhaaldelijk *niet* het geval is.

Volgens SCHMIDT (Pharmaceutische chemie 1901 Bd. II blz. 1491) kunnen in verschillende opiumpraeparaten de volgende hoeveelheden aan alcaloiden gevonden worden.

morphine	10 —14 %
narcotine	4 — 8 %
papaverine	0.5— 1 %
codeine	0.2— 0.8%
thebaine	0.2— 0.5%
narceine	0.1— 0.4%

De opgaven van ZÖRNIG (in Arzneidrogen I 1909) komen hier nagenoeg geheel mee overeen.

VAN DER WIELEN[1]) bepaalde het gehalte aan narcotine, codeine en meconzuur in vier opiummonsters en vond, wanneer hij elk dezer monsters A. B. C. & D. op een morphinegehalte van 10% bracht de volgende waarden voor de andere stoffen.

	narcotine per cent	codeine per cent	meconzuur per cent.
A.	4.8	0.9	4.4
B.	3.4	0.5	3.2
C.	6.5	1.4	4.4
D.	6.1	0.7	5.2

ook hier dus belangrijke verschillen.

Nu hebben de alcaloiden die naast het morphine in opium voorkomen, een veel geringere physiologische werking dan morphine. Bovendien kom enze in betrekkelijk geringe hoeveelheid in opium voor. De vraag mag dus worden gesteld of deze nevenalcaloiden wel veel invloed kunnen uitoefenen en of tóch niet een bepaling van het morphinegehalte voldoende is. Deze vraag komt in een bizonder licht, door onderzoekingen die in den laatsten tijd in vele laboratoria o.a. dat van BÜRGI, zijn verricht.

BÜRGI heeft in een reeks van mededeelingen die sedert 1910 uit zijn laboratorium verschenen, den nadruk gelegd op het feit, dat bij het gebruik van een combinatie van geneesmiddelen niet altijd een werking optreedt, die gelijk is aan de algebraische som der werkingen der samenstellende deelen, maar dat deze werking grooter kan zijn. Is dit het geval dan spreekt BÜRGI van een *potenticering*, waartegenover dan staat het eenvoudige geval van *additie*, wanneer de werking van het mengsel wel gelijk is aan de som der werkingen der deelen. BÜRGI[2]) stelde oorspronkelijk den regel op dat een potentieering steeds dan zou optreden, indien gecombineerd werden vergiften die tot een verschillende chemische groep behooren en die dus een verschillend pharmacologisch aangrijpingspunt hebben, dus b.v. narcotica der vetreeks en opium-alcaloiden. Deze regel bleek niet geheel juist te zijn en ook BÜRGI acht hem thans niet meer in vollen omvang geldend Hij stond reeds in 1916[3]) op het standpunt, dat in die gevallen, waarin twee geneesmiddelen gecombineerd worden, die tot dezelfde chemische groep behooren en die dus volgens hem eenzelfde pharmacologisch aangrijpingspunt hebben, slechts een eenvoudige additie der werking optreedt, ter-

1) P. VAN DER WIELEN. The standardisation of opium for pharmaceutical purposes „normal opium". Yearbook of pharmacy 1912/13 en Pharmac. Weekblad 1913 817—124.

2) E. BÜRGI. Allgemeine Bemerkungen zu meinen die Wirkung von arzneicombinationen betreffenden arbeiten. Zoitsch. für. exp. Path. und Ther. Bd. VIII pag. 523 1911.

3) E. BÜRGI. Ueber arzneigemische und ihre Wirkungen Zeitsch. f. exp. Path. u Ther. Bd. 18. p. 1. 1916

Zie ook E. BÜRGI Die wirkung der Arzneigemische Rektoratsrede, Bern 1914.

wijl bij combinatie van geneesmiddelen uit verschillende groepen een potentieering voorkomen *kan*, maar niet noodzakelijkerwijs aanwezig behoeft te zijn. Ook in dezen vorm is de regel niet geheel houdbaar, omdat b.v. mengsels van morphine en codeine die zeker tot dezelfde groep behooren een duidelijke potentieering vertoonen en hetzelfde geldt voor de combinatie nicotine-lobeline.

Ik geloof dat men zeker kan zeggen dat één potentieering optreden moet indien een of beide componenten van een mengsel een concentratie-werkingscurve hebben als in fig. 2 (vergel. bl. 15) is voorgesteld en als dan nog bovendien de beide stoffen een verschillend pharmacologisch aangrijpingspunt hebben. Is dit laatste niet het geval dan *kan* toch een potentieering plaats vinden. Ongetwijfeld zal een potentieering ook door andere — nog onbekende — factoren kunnen worden teweeggebracht.

Hoe het zij, zeker is dat gevallen van potentieering voorkomen al is het dan niet in die mate als door Bürgi's leerlingen en anderen wordt gemeend (vergel. mededeelingen van mej. van der Made, van Le Heux en van mij). [1])

Enkele voorbeelden van duidelijke potentieeringen mogen hier volgen.

Takahashi [2]) toonde eenige jaren geleden aan, dat de stoppende werking van morphine door kleine hoeveelheden codeine kon worden versterkt, zoodat met $^1/_4$ der morphinedosen + $^1/_{40}$ à $^1/_{400}$ der codeinedosen de volle werking werd verkregen.

Te voren hadden reeds Straub en zijn leerlingen [3]), [4]) een potentieering bij de werking van mengsels van morphine en narcotine op de muis gevonden [5]) terwijl later Macht [6]) en zijn medewerkers met een zeer nauwkeurige methode aan konden toonen, dat ook dan, wanneer de specifieke morphinewerking — het verminderen van het pijngevoel bij menschen — als toets wordt benut, een zeer aanzienlijke potentieering bij het gebruik van het mengsel van morphine met codeine, narceine, narcotine enz. optreedt.

Zorn [7]) vond een duidelijke potentieering voor de locaalanaesthetische werking van mengsels van novocaine en cocaine met kalium zouten.

De Lind van Wijngaarden en ik [8]) konden aantoonen dat de bloedsdrukstijgende werking van nicotine sterk wordt gepotentieerd door lobeline.

Tenslotte zij nog gewezen op de merkwaardige potentieering die Führer [9]) kort geleden meedeelde. (physostigmine — acetylcholine op bloedzuigerspier).

Gewapend met deze gegevens kan men dus met recht betoogen,

---

1) Zie W. Storm van Leeuwen. Over het gebruik van samengestelde geneesmiddelen Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1917, 2e helft 957.

Uitvoerige mededeelingen hieromtrent verschijnen in Pflüger's Archiv.

2) M. Takahashi. Quantitative experimentell-therapeutische Versuche zur Ermittlung der stopfenden Bestandteile in opium. Pflüger's Archiv. Bd. 159 pag. 327 1914.

3) W. Straub. Die pharmakodynamische Wirkung des Narkotins im Opium. Bioch. Zeitschr. Bd. 41 pag. 419 1912.

Zie ook Bioch Zeitschr. Bd. 57 pag. 136.

4) H. Caesar. Quantitative Untersuchung der Toxizitätsänderung des Morphins bei Kombination mit anderen Opiumalkaloiden. Bioch. Zeitschr. Bd. 42 pag. 316 1912.

5) Hierop is kritiek uitgeoefend door Meissner (Bioch. Zeitschr. Bd. 54 p. 395 en Bioch. Zeitschr. Bd. 67 p. 502.)

6) D. Macht, N. Herman en Ch. Levy. A quantitative study of the anaesthesia produced by opiumalkaloids individually and in combination with each other in normal man. Journ. of pharm. and exp. therap. vol VIII pag 1.

7) L. Zorn. Beiträge zur Pharmacologie der Mischnarcose II Zeitschr. f. exp. Path. und Ther. Bd. 12 p. 529. 1913.

8) W. Storm van Leeuwen en C. de Lind van Wijngaarden. Over den invloed van lobeline op de bloedsdrukverhooging door nicotine. Kon. Akad. v. Wetenschappen Amsterdam. Wis- en Natuurk. afd. Deel XXVI p. 560 1917.

9) H. Führer. Untersuchungen über den Synergismus von Giften IV. Arch. f. exp. Path. und Pharm. Bd. 82 p. 51. 1917.

dat de werkzaamheid van een bepaald opiumpraeparaat niet voldoende kan worden beoordeeld door het verrichten van een scheikundig onderzoek van het morphinegehalte, maar dat physiologisch onderzoek daartoe noodig is.

Het feit dat bij het gebruik van mengsels van geneesmiddelen een ,,potentieering'' optreden kan, maakt niet alleen dat bij bepaalde galenische praeparaten physiologische waardebepalingen noodig zijn, maar is tevens een reden om als eisch te stellen, dat bij het in gebruik nemen van een *nieuw* mengsel van geneesmiddelen steeds een quantitatief physiologisch onderzoek naar de werking van de combinatie zal noodig zijn, althans wanneer het betreft geneesmiddelen waarbij het optreden van een ,,potentieering'' te verwachten is.

Zooals elders [1]) reeds door mij is uiteengezet, zal men, indien van beide stoffen van het mengsel de concentratiewerkingscurven [2]) bekend zijn, van te voren reeds kunnen vermoeden of een potentieering al dan niet aanwezig zal zijn. Zekerheid hieromtrent heeft men natuurlijk ook dan niet.

Physiologische waardebepalingen zijn dus noodig bij het bepalen van de sterkte van galenische praeparaten, die uit verschillende werkzame stoffen bestaan en bij het onderzoek van een nieuw mengsel van geneesmiddelen, indien de kans bestaat, dat bij de werking van het mengsel niet een eenvoudige additie, doch een potentieering der werking der samenstellende deelen zal optreden.

3. Nog in een derde geval zijn biologische methoden ter aanvulling van chemische onderzoekingen nuttig. Wanneer n.l. een nieuw geneesmiddel wordt gemaakt of een bekend geneesmiddel wordt vervaardigd door een fabriek, die zich tot dusverre daarmede nog niet bezighield, dan zal in sommige gevallen de fabrikant vóór het nieuwe product in den handel wordt gebracht, als laatste contrôle, dat werkelijk het geneesmiddel in volkomen werkzamen vorm zonder bijmenging van schadelijke bestanddeelen wordt afgeleverd, om het dierexperiment vragen.

Ook dan is dus de biologische methode op zijn plaats.

4. Hoewel niet betrekking hebbende op geneesmiddelen, zij hier toch in herinnering gebracht, hoe bij het beoordeelen van de deugdelijkheid en vooral van eventueele schadelijkheid van een voedings- of genotmiddel of een surrogaat ervan herhaaldelijk met vrucht van physiologische methode is gebruik gemaakt. Bij een onderzoek naar het nicotinegehalte in den rook van verschillende soorten sigaren bleek mij o.a. dat de gebruikelijke chemische methoden niet voldoende waren en een physiologische waardebepaling van het nicotine betere waarden gaf. Ook bij onderzoek van koffie- en theesurrogaten bleek in vele gevallen, de biologische methode een nuttige aanvulling van de chemische en microscopische methoden te zijn

* * *

1) Mededeeling op den 3en physiologendag te Amsterdam 1917. Verschijnt uitvoerig in Pflüger's Archiv.

2) Zie over dit begrip blz. 14.

Uit het bovenstaande blijkt, dat op zeer verschillende gebieden met voordeel van physiologische waardebepalingen kan worden gebruik gemaakt, en dit gebruik zal bij het toenemen onzer kennis nog steeds vermeerderen. Niet echter mag worden verzwegen, dat de physiologische waardebepalingen twee groote nadeelen hebben.

Het eerste nadeel is, dat dierproeven altijd onberekenbaar zijn. Of men intacte dieren gebruikt of men ze narcotiseert of niet, of men ten slotte slechts met overlevende organen of met deelen daarvan werkt, steeds heeft men de kans, niet alleen dat een proef geheel mislukt, maar ook dat één enkele proef een geheel abnorm resultaat geeft. Een enkel voorbeeld moge dit duidelijk maken. Bij een onderzoek van een digitalisinfuus, welk onderzoek volgens de methode van HATCHER, dus aan de intacte kat, werd verricht, werden voor hetzelfde infuus gevonden de waarden 2 ; 2,1 en 2,18 getallen dus, die vrij dicht bij elkaar liggen. Plotseling geeft een vierde kat met hetzelfde infuus een waarde 3,1 dus 50 % hooger, zonder dat men zich ook maar eenigszins verklaren kan, wat daarvan de reden is. En deze moeilijkheid heeft men, niet alleen bij deze, maar bij alle physiologische methoden te verwachten, en dan meestal op het meest ongelegen oogenblik. Dit is een groot onderscheid met de chemische methoden; daar geven althans de eenvoudige fundamenteele werkwijzen constante uitkomsten. Lakmoespapier wordt door zuur steeds rood gekleurd, maar wanneer men 20 of meer malen achtereen heeft waargenomen dat 0,1 mgr. nicotine onder bepaalde omstandigheden bij een kat een bepaalde bloedsdrukstijging geeft, dan kan het gebeuren, dat de eenentwintigste maal, ook als alle contrôleerbare voorwaarden gelijk zijn gebleven, met dezelfde dosis of zelfs met een tienmaal hoogere, *geen* bloedsdrukstijging wordt verkregen, ja zelfs kan het voorkomen, dat een daling van den bloedsdruk optreedt. Dit wisselvallige in de uitkomsten der physiologische methoden maakt, dat men nooit uit één enkele proef conclusies kan trekken, dit maakt tevens, dat in elk bizonder geval moet worden overwogen of een reeks van proeven betrouwbaar is en welke werkzaamheid men aan het onderzochte monster, op grond van die proefreeks, moet toekennen en dit maakt tenslotte ook, dat het doen van physiologische waardebepalingen alleen *met vrucht kan geschieden door in deze richting geschoolde personen.*

Een tweede nadeel van de physiologische waardebepalingen is, dat ook als men alle mogelijke voorzorgen neemt en zeer nauwkeurig werkt, de proeffout — als men niet een overdreven groot aantal proeven neemt — betrekkelijk groot blijft. Herhaaldelijk zal men op een fout van ca. 20 % moeten rekenen. Hiertegenover staat, dat bij sommige methoden de fout veel kleiner is en

daalt tot 3 à 5%. Bij de haemolytische methode is zij zelfs nog lager en daalt tot 1,5% [1]). De physiologische waardebepalingen geven dus betrekkelijk onnauwkeurige waarden. Maar dit is nog geen reden, om ze niet te gebruiken, omdat ze juist dáár worden toegepast, waar de chemische of physische methoden óf nog veel onnauwkeurigere óf in het geheel geen uitkomst geven. Maar juist omdat betrekkelijk zulk een groote proeffout aanwezig is, zullen een aantal dezer biologische methoden gedoemd zijn om weer te verdwijnen en te worden vervangen, óf door betere biologische óf door goede chemische methoden. Dit laatste, het vervangen der biologische door de chemische methoden kan natuurlijk niet geschieden in de boven onder 2 en 3 genoemde gevallen.

Naast deze nadeelen mag dan nog als voordeel genoemd worden, dat zeer dikwijls met physiologische methoden uiterst kleine hoeveelheden van een vergift kunnen worden aangetoond en min of meer quantitatief bepaald. Zoo geeft bijv. een oplossing van β-imidazolylaethylamine, die per c.M³. 0.0001 mgr. van dit vergift bevat als regel een duidelijke werking op den overlevenden uterushoorn en een werking die zeer duidelijk is te onderscheiden van die welke 0.00012 mgr. per c.M³. bevat.

Indien de methode *niet* nauwkeurig quantitatief behoeft te zijn kunnen nog veel geringere hoeveelheden van vergiften met biologische methoden worden aangetoond. De door muscarine veroorzaakte stilstand van het kikvorschhart kan door 1 c.M³. van een oplossing van 1 : 12 000.000 dat is dus door 0,000.000.8 mgr. scopolamine worden opgeheven. [2])

De aanwezigheid van adrenaline kan onder gunstige omstandigheden met een physiologische methode worden aangetoond in een verdunning van 1 op 1 milliard en de werking hiervan kan worden onderscheiden van die van een verdunning van 1 op 2 milliard. [3])

De gevoeligheid van deze methode is dus van dezelfde orde als die van de gevoeligste microchemische methoden.

De physiologische methoden kunnen dus veelal gebruikt worden om zeer kleine hoeveelheden van een vergift qualitatief en gedeeltelijk quantitatief aan te toonen. Bij de werkelijk quantitatieve methoden is de proeffout in de gunstige gevallen 1,5% of 3 à 5%, in vele gevallen hooger tot 20 à 25%.

Voordat ertoe kan worden overgegaan om de bruikbare physiologische methoden afzonderlijk te bespreken, moeten nog enkele algemeene gezichtspunten worden nagegaan.

Bij het verrichten van een physiologische waardebepaling kan men in hoofdzaak twee werkwijzen volgen.

1. Bij de eerste werkwijze wordt onderzocht, hoeveel men van

---

1) Zooals prof. HAMBURGER mij meedeelde (zie H. HAMBURGER Osmotischer Druck und Ionenlehre p. 262).

2) LANGER. Therap. Monatsh. 1912. pag. 121.

3) P. TRENDELENBURG. Ueber die Adrenalinkonzentration im Säugetierblut. Arch. f. exp. Path. u. Pharmac. Bd. 79, pag. 154, 1915.

het te onderzoeken vergift moet gebruiken, om een bepaalde werking bij een dier of op een orgaan te verkrijgen en men vergelijkt die met de werking, die in andere gevallen een bekend vergift op een dergelijk dier of een dergelijk orgaan gehad heeft.

Deze werkwijze wordt o.a. gebruikt bij het ijken van digitalispraeparaten. Men onderzoekt hoeveel van het onbekende digitalispraeparaat men een dier moet inspuiten om het te dooden en vergelijkt die waarde met die, welke men met een praeparaat van bekende sterkte heeft verkregen, bij soortgelijke dieren.

2. De tweede werkwijze is eenvoudiger en nauwkeuriger. Men onderzoekt de werking van het onbekende praeparaat op een bepaald geisoleerd orgaan. Daarna verwijdert men het vergift uit de voedingsvloeistof, waarin zich het orgaan bevindt, waarna het orgaan weer in zijn vorigen toestand terugkeert. Nu geeft men eenzelfde hoeveelheid van hetzelfde praeparaat en herhaalt dit zoolang, tot men een dosis gevonden heeft, die eenige malen achtereen precies dezelfde werking uitgeoefend heeft, dan geeft men een bepaalde dosis van een praeparaat van bekende sterkte, en vergelijkt de werking daarvan met die van het onbekende praeparaat; als controle kan men dan tenslotte nog eenzelfde dosis van het onbekende praeparaat geven.

Deze methode, die ook in enkele gevallen kan worden toegepast door inspuitingen bij het geheele dier, heeft het groote voordeel dat men individueele verschillen in gevoeligheid van het orgaan of van het dier veel beter kan uitschakelen, dat men snel kan werken en bovendien weinig materiaal noodig heeft, omdat op eenzelfde orgaan of op eenzelfde dier vele malen achtereen eenzelfde dosis van een vergift kan inwerken, zonder dat de gevoeligheid verandert.

Deze tweede werkwijze, die dus de voorkeur verdient boven de eerste en die o.a. bij het ijken van secalepraeparaten en bij het bepalen van het nicotinegehalte van verschillende vloeistoffen wordt gebruikt, kan alleen toegepast worden, indien de werking van het vergift, dat men onderzoeken wil, volkomen *reversibel* is. Is dit niet het geval, dan kan natuurlijk nooit een tweede even groote dosis van het vergift een volkomen gelijke werking hebben als de eerste. Dit is b.v. de reden, dat de digitalis niet op deze wijze kan worden geijkt. Heeft dit vergift op het hart een bepaalde werking uitgeoefend, dan gaat die werking niet binnen den tijd, die voor een physiologisch experiment beschikbaar is, voorbij en bij een dergelijk vergift moet dus wel de eerst genoemde werkwijze worden benut.

Hoewel de beide aangegeven werkwijzen vrij aanzienlijk van elkaar verschillen, is toch van beide het grondprincipe, dat men de werking van het onbekende praeparaat vergelijkt met die welke een bekend praeparaat op hetzelfde object uitoefent. En bij beide werkwijzen moet de vraag gesteld worden, met welk

bekend praeparaat het onbekende praeparaat moet worden vergeleken. Een vraag die voor het beoordeelen van de waarde en van de juistheid eener physiologische methode van groot belang is. Deze zaak is het gemakkelijkst met een voorbeeld toe te lichten.

Wanneer de werkzaamheid van een bepaald monster digitalisbladen moet worden vastgesteld, dan kan men beginnen met van dat monster een infuus te maken, en de sterkte van dit infuus op de gebruikelijke wijze met een der physiologische methoden te onderzoeken. Op welke wijze moet men nu de sterkte van het infuus uitdrukken ? Het meest voor de hand liggende is, dat men van een andere partij digitalisbladen, die tot dit doel in voorraad wordt gehouden en die als „Standaard"-partij dienst doet, eveneens een monster neemt, daarvan een infuus maakt en de sterkte ervan op dezelfde wijze bepaalt. Men kan de sterkte der beide infusen vergelijken en door een getal aangeven, dat het te onderzoeken infuus 2 × of 1,5 × zoo sterk is als het standaardinfuus. Deze voor de handliggende wijze van werken kan in één geval steeds worden toegepast n.l. indien de onder I genoemde werkwijze wordt benut en bij het gekozen proefdier betrekkelijk geringe individueele verschillen in gevoeligheid bestaan en jaargetijden, weersveranderingen, temperatuur der omgeving enz. slechts geringen invloed hebben. Dit is o.a. bij de HATCHER-methode voor digitalisbepalingen het geval. Bij die methode kan eens en vooral worden vastgesteld, hoeveel van een infuus van een bepaalde digitalissoort gemiddeld noodig is om I Kg. kat te dooden en dan kan later van elk ander infuus de werking met die van het eerste worden vergeleken, zonder dat het zelfs noodig is, dit eerste infuus, dat als uitgangsmateriaal heeft dienst gedaan, te bewaren. Want in dat bewaren van de standaardpartij schuilt juist de moeilijkheid. Wanneer de gevoeligheid van het proefobject sterk aan individueele en andere verschillen onderhevig is, dan moet noodzakelijkerwijze vóór een ijking begint, worden vastgesteld hoe de dieren op dit bepaalde tijdstip reageeren, of hoe sterk het te gebruiken orgaan op een bepaalde hoeveelheid van de standaardpartij reageert. En nu is men in vele gevallen niet zeker, dat de standaardpartij bij langdurig bewaren constant van werking blijft, ja men weet van een aantal stoffen, die hiervoor in aanmerking zouden komen, dat zij zeker bij eenigszins langdurig bewaren in werkzaamheid zullen afnemen.

Onder dergelijke omstandigheden kan niet het onbekende praeparaat met een soortgelijk „standaard-praeparaat" worden vergeleken en moet dus een andere stof gekozen worden, die als test-object zal dienstdoen. En bij de keuze van een dergelijke stof doen zich moeilijkheden voor, die uitvoerig moeten worden besproken.

Wanneer — om een concreet voorbeeld te noemen — het

extractum secalis cornuti met een physiologische methode zal worden geijkt, dan geschiedt dit het best door de werking op den uterus na te gaan. Eenzelfde hoeveelheid secale heeft op den uterus van verschillende dieren niet denzelfden invloed, en men moet dus de werking van het te onderzoeken monster vergelijken met de werking die een monster van een bekende partij heeft op *denzelfden* uterus. Het extractum secalis cornuti verandert echter, wanneer het langen tijd bewaard wordt, van sterkte, dus moet een andere stof gekozen worden, die dezelfde physiologische werking heeft en die niet van sterkte verandert en daarbij heeft men kans een onjuistheid in de methode in te voeren. Reeds het ijken van een secalepraeparaat door de werking na te gaan op den overlevenden cavia-uterus is niet geheel en al zonder bezwaar. De secale wordt in de therapie gebruikt in hoofdzaak wegens haar werking op den uterus der patienten. Wil men aan twee monsters secale een *gelijke* therapeutische werkzaamheid toekennen, dan moet dus de werking op den uterus *van den mensch* voor deze twee praeparaten gelijk zijn. Op den mensch kan men geen nauwkeurig quantitatief onderzoek verrichten, daarom wordt onderzocht de werking op den uterus van een dier, waarbij men verwacht, dat indien de twee secale monsters op den overlevenden uterus een gelijken invloed uitoefenen, dat ze dan ook op den mensch gelijk zullen werken. Deze verwachting is niet geheel gegrond. Het is mogelijk dat een secalepraeparaat geringe bijmengingen van een stof bevat, die wèl wanneer zij wordt toegevoegd aan de vloeistof waarin zich een overlevende uterushoorn van een dier bevindt, op dat orgaan een grooten invloed zal uitoefenen, hetzij prikkelend of verlammend, maar die bij den mensch, waar het geneesmiddel onderhuidsch wordt ingespoten, geen invloed op den uterus uitoefent.

Dit bezwaar is niet fictief, zooals uit het volgende voorbeeld blijken moge. Bij het ijken van een bepaald monster secale bleek dit monster een zwakke werking te hebben maar tevens was opvallend, dat indien een dosis a een bepaalden invloed op den overlevenden uterus uitoefende, dat dan een dosis $2a$ niet een zooveel sterkere werking had als verwacht kon worden op grond van ervaring met andere praeparaten. Tevens bleek, dat een dosis $4a$ betrekkelijk een nog geringer werking had. Bij onderzoek bleek nu, dat de secale sterk zuur reageerde en het was mij bekend dat toevoeging van een geringe hoeveelheid zuur de prikkelbaarheid van den uterus voor secale — en voor een aantal plantenbasen — vermindert. Bij de toediening van een dosis a was de hoeveelheid zuur nog te gering om zijn werking te doen gelden, bij de hoogere dosen werd de zuurgraad van de voedingsvloeistof te hoog en verminderde den invloed van de secale op den uterus. Werd aan dit monster secale wat alkali toegevoegd, zoodat het bijna neutraal reageerde, dan bleek het in verschillende concentraties op normale wijze op den uterus in te werken en was het dus mogelijk toch de standaardisatie te verrichten.

In een ander geval werd eveneens bij een monster secale een afwijkend gedrag in dat opzicht waargenomen. Toen bleek, bij navraag aan den fabrikant, dat bij het bereiden van het extract formaline was gebruikt, die wel is waar daarna weer grootendeels was verwijderd, maar toch nog in staat bleek om de ijking van het praeparaat zeer te bemoeilijken, zoo niet onmogelijk te maken.

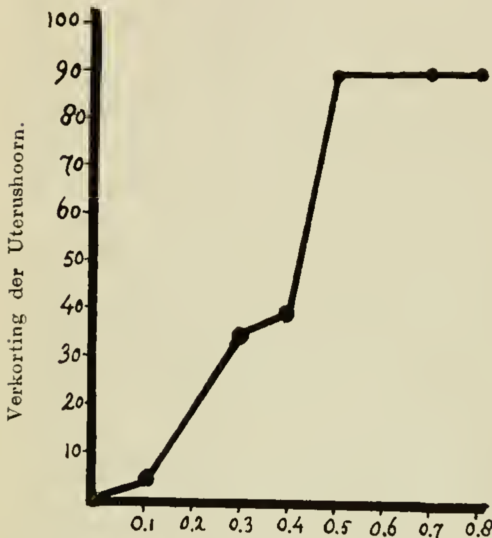
Was niet in dozo beide gevallen het voorkomen van verontreinigingen ontdekt, dan zouden natuurlijk uit de ijking geheel verkeerdo gevolgtrekkingen omtrent de sterkte van de secalemonsters zijn gemaakt, omdat de aanwezige overmaat van zuur in het ééne en van formaline in het andere geval natuurlijk geen invloed op de werking van de secale op den mensch zou uitoefenen.

Te hoog aanslaan moet men de kans, dat op deze wijze fouten worden begaan overigens niet, omdat men het voorkomen van dergelijke abnorme bestanddeelen ontdekken kan, indien men zich niet tot het onderzoeken van één dosis van het vergift bepaalt, maar verschillende dosen onderzoekt en dus een indruk krijgt over het verloop der concentratie-werkingscurve (waarover later).

In ieder geval geheel zeker, dat 2 secalemonsters, die beide dezelfde werking op den overlevenden uterus hebben, ook beide dezelfde therapeutische werking op den mensch zullen uitoefenen is men niet, maar grooter wordt de moeilijkheid, indien men niet de secale tegen een standaardpraeparaat van secale ijkt, maar tegen een andere stof. En toch is dit in het geval van de secale noodzakelijk, zooals boven is uiteengezet. Als vergelijkingsobject zal men nu bij voorkeur kiezen een stof, die in chemisch zuiveren vorm te verkrijgen is en dus volkomen constant van werking is en die tevens zooveel mogelijk in werking met de secale overeenkomt. Deze overeenkomst in werking moet niet alleen qualitatief maar ook geheel quantitatief zijn.

Fig. 1.

C-W. curve voor histamine op den overlevenden cavia-uterus.



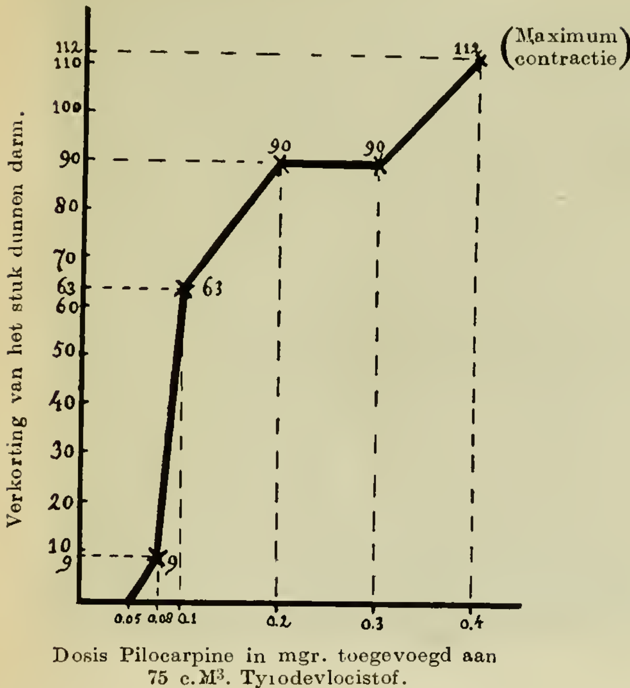
Histamine in c.M³. van oplossing 1 mgr. histamine in 50 c.M³. water, toegevoegd aan 75 c.M³. vloeistof.

De concentratie-werkingscurven van de beide stoffen, waarvan men de werking wil vergelijken, moeten onderling zooveel mogelijk overeenkomen. Dit begrip concentratie-werkingscurve behoeft toelichting.

Wanneer men achtereenvolgens op een dier of op een orgaan steeds-stijgende hoeveelheden van een vergift laat inwerken, dan zal in vele gevallen de werking, die daardoor wordt uitgeoefend, aanvankelijk stijgen om tenslotte als het maximum van werking bereikt is gelijk to blijven of zelfs te verminderen indien te groote dosen schadelijk werken. Men kan nu deze verhoudingen tusschen de concentratie, dio het vergift heeft en de werking die het uitoefent, in curve brengen door bijv. op de abcis de concentratie, op de ordinaat de werking

Fig. 2.

Concentratie-werkingscurve van Pilocarpine op den overlevenden kattendarm in Tyrodevloeistof.



Dosis Pilocarpine in mgr. toegevoegd aan 75 c.M³. Tyrodevloeistof.

uit te zetten. Doet men dit, dan verkrijgt men een z.g. concentratie-werkingscurve, zooals die bijv. in Fig. 1 voor de werking van β-imidazolylaethylamine (histamine) op den overlevenden cavia-uterus en in fig. 2 voor de werking van pilocarpine op den overlevenden darm is voorgesteld. In fig. 3 zijn de curven afgebeeld, waaruit de waarden van fig. 2 zijn berekend.

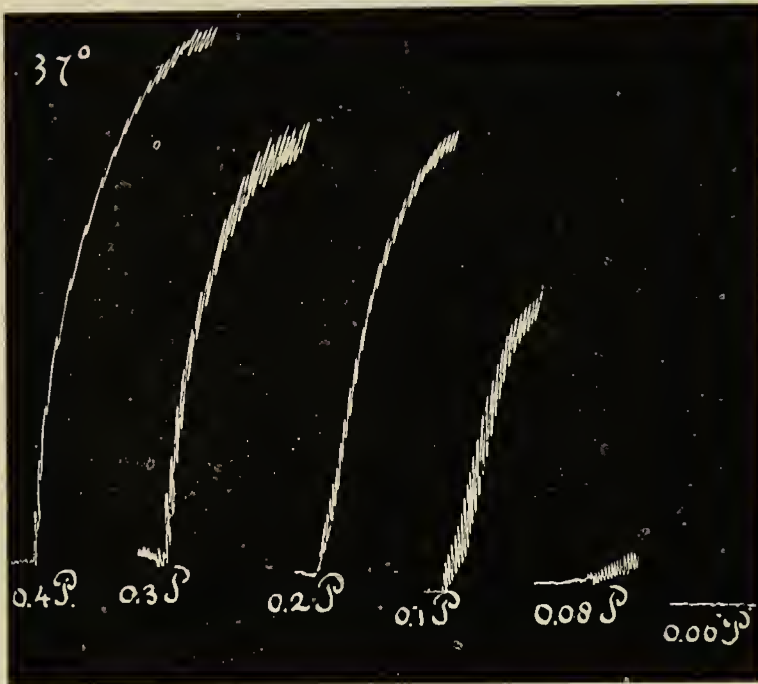
Bij het maken van een dergelijke curve kan men, indien de hoeveelheid vloeistof waarin het overlevende orgaan zich bevindt, gelijk blijft voor „concentratie" de dosis invullen, die men heeft toegevoegd. Betreft het inspuitingen bij een geheel dier, dan wordt gerekend, dat de „concentratie" evenredig is met de dosis per K.G. dier. Dit laatste zal waarschijnlijk niet in alle gevallen geoorloofd zijn; intusschen, wanneer daarbij afwijkingen voorkomen, is alleen het woord „concentratie" onjuist, terwijl de geheele beschouwingswijze juist kan blijven.

Onder werking is bij het werken op den overlevenden uterus of darm verstaan de verkorting van het orgaan, die onder invloed van het vergift optreedt.

De in fig. 1 en 2 gegeven concentratie-werkingscurven hebben een zeer eigenaardig verloop, dat men herhaaldelijk terug vindt bij de werking van plantenbasen op organen of op dieren en dat in schematischen vorm in fig. 17 is aangegeven. Het kenteekenende van een dergelijke kromme is, dat er een zône in voorkomt, waar een zeer geringe verandering van de hoeveelheid vergift, die men toedient een groote verandering in werking teweeg brengt. Dit maakt natuurlijk deze zône bizonder geschikt voor quantitatief onderzoek en één van de vaste regels, die bij physiologische waardebepalingen in acht moeten worden genomen, is dat men steeds eerst onderzoekt waar voor de beide te onderzoeken vergiften deze zône ligt, om dan in dat gebied de gelijkheid van werking te zoeken. En tevens blijkt uit een dergelijke curve, dat men er zich zeer voor wachten moet om in de nabijheid van het horizontaal loopende deel van de curve te werken, omdat men daar natuurlijk geheel onjuiste uitkomsten verkrijgt. Ik heb gemerkt, dat ongeoefenden bij voorkeur deze fout maken.

Terugkeerende tot het punt van uitgang wil ik er nogmaals op wijzen, dat alleen dan twee vergiften tegen elkaar kunnen worden

Fig. 3.



Werking van verschillende concentraties pilocarpine op den overlevenden kattedarm.

geijkt, indien hun concentratie-werkingscurve dezelfde is. De concentratie-werkingscurve van extractum secalis cornuti b.v. komt sterk overeen met die van β-imidazolylaethylamine en met die van paraoxyphenylaethylamine, zoodat, wat dit betreft, deze beide stoffen bij de ijking van extractum secalis cornuti kunnen worden benut.

Een geval, waarin de concentratie-werkingscurve van twee vergiften haast op ideale wijze met elkaar overeenkomt is dat van de werking van nicotine en lobeline op den bloedsdruk van de gedecapiteerde kat (na atropine-injectie). Daar is niet alleen het verloop der concentratie-werkingscurven identiek, maar tevens hebben gelijke dosen van de beide alcaloiden ook quantitatief geheel dezelfde werking. Een dergelijke volkomen overeenstemming in werking tusschen twee verschillende vergiften zal men natuurlijk zelden aantreffen.

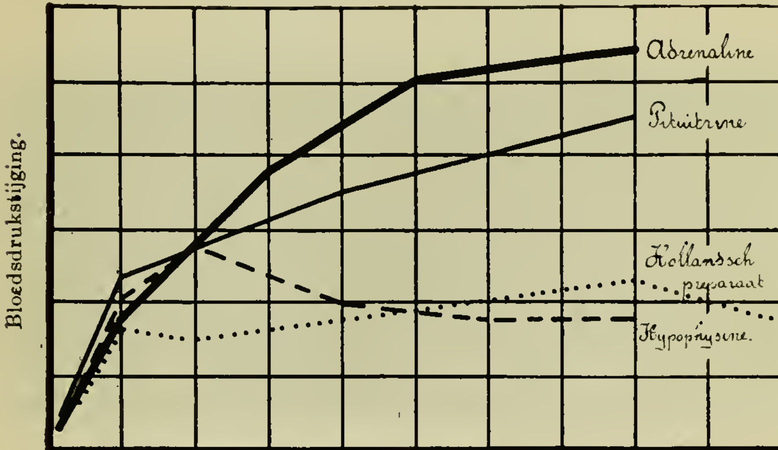
Heeft de concentratie-werkingscurve van een praeparaat een ongunstig verloop, dan kan daardoor een bepaalde physiologische waardebepaling haast onmogelijk gemaakt worden.

Een dergelijk geval deed zich o.a. voor toen getracht werd om met de bloedsdruk-

methode, die voor pituitrine zeer geschikt gebleken was. ook pituglandol en andere hypophysis-praeparaten te ijken. Het pituitrine n. . was gestandaardiseerd tegen adrenaline, de concentratie-workingscurven van beide vergiften zijn wel niet gehee

Fig. 4.

C.-W. Curve voor Adrenaline, Pituitrine, Hypophisine en een Hollandsch Hypophysis praeparaat.

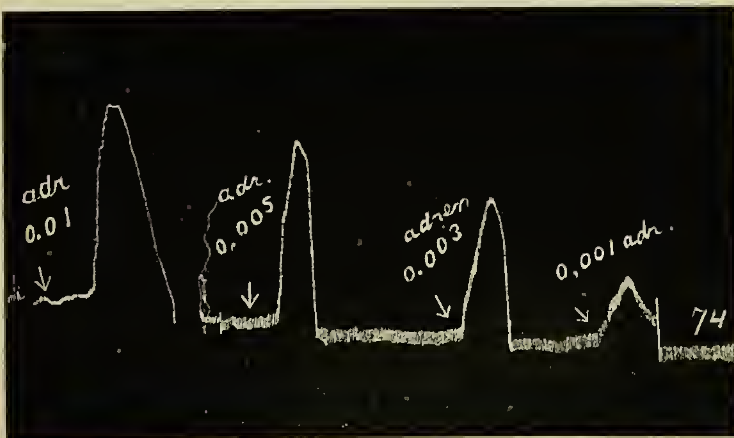


Dosis per. K.G. dier.

- Adrenaline.
- Pituitrine.
- Hypophysine.
- Hollandsch preparaat.

Fig. 5.

Bloedsdruk gedecapiteerde kat.

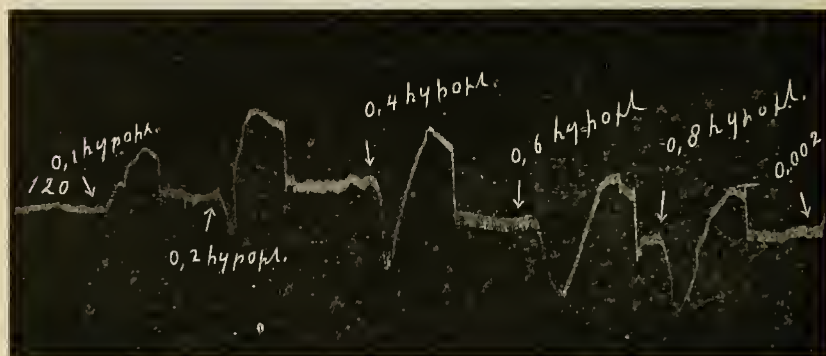


Invloed van verschillende hoeveelheden adrenaline.

gelijk, zooals uit fig. 4 blijkt, maar als men in de lage concentraties blijft, is het toch mogelijk bruikbare resultaten te verkrijgen. Een poging, om ook pituglandol, hypophysine en een hollandsch hypophysis-praeparaat op deze wijze te standaardiseeren mislukte geheel. De concentratie-werkingscurve van hypophysine en van het hollandsche hypophysis-preparaat zijn eveneens in fig. 4 aangegoven. Fig. 5 en 6 geven de adrena-

Fig. 6.

Bloedsdruk gedecapiteerde kat.



Invloed van verschillende hoeveelheden Hypophysine.

line- en hypophysinecurven, zooals ze geregistreerd zijn en waaruit de waarden voor de curve van fig. 4 zijn berekend. Dat een ijking van pituglandol met deze methode onmogelijk is, is zonder meer duidelijk. De hier gegeven beschouwingswijze heeft tevens het voordeel, dat zij onmiddellijk tot de gevolgtrekking leidt, dat pituglandol niet 1 werkzame stof bevat maar minstens 2 stoffen, waarvan de éene een bloedsdrukstijging, de andere een bloedsdrukdaling geeft. Dit wordt later uitvoeriger besproken.

Wordt nu het bovenstaande samengevat, dan kan dus het volgende worden vastgesteld.

Elke physiologische waardebepaling van genecsmiddelen op een dier of dierlijk orgaan heeft het nadeel, dat men niet geheel zeker is, dat twee vergiften die een onderling gelijke werking op het dier uitoefenen, ook een gelijke therapeutische werking op den mensch zullen hebben.

Aangezien nu slechts in uitzonderingsgevallen physiologische waardebepalingen op menschen mogelijk zijn (locaalanaesthetica !), moet men deze onzekerheid aanvaarden, maar men kan ze zoo gering mogelijk doen zijn door in de eerste plaats te zorgen, dat als toets voor de werkzaamheid van een praeparaat wordt genomen een werking op het dier, die zoo dicht mogelijk staat bij de therapeutische werking op den mensch en in de tweede plaats slechts de werking te vergelijken van praeparaten die zooveel mogelijk gelijksoortig zijn of op dezelfde wijze uit een gelijksoortige grondstof zijn bereid. En dit is een punt waartegen b.v. de Amerikaansche pharmacopee Ed. IX zondigt.

De Amerikaansche pharmacopee, Ed. IX, die overigens een voortreffelijk voorbeeld gegeven heeft, door voor eenige galenische praeparaten een physiologische waardebepaling op te nemen [1]), geeft voor digitalisachtige stoffen een later te beschrijven kikvorschmethode aan en zij stelt daarbij den eisch, dat steeds voor elke ijking de gevoeligheid der kikvorschen moet worden gecontroleerd door inspuitingen te doen met *ouabaine* (g. strophantine) ook dan, wanneer daarna een ander praeparaat, bijv. een *digitalistinctuur*, zal worden onderzocht. Wat hierbij de gedachtengang is, zal later ter sprake komen. Genoeg zij hier te vermelden, dat stilwijgend door de Amerikaansche pharmacopee wordt aangenomen, dat indien de gevoeligheid der kikvorschen tegen ouabaine met 25% stijgt, ook de gevoeligheid tegen alle mogelijke andere digitalis-praeparaten met 25% stijgen zal. Dat dit een juist beginsel zou zijn, was al a priori zeer onwaarschijnlijk. Volkomen bewezen is de onjuistheid van dit standpunt door een recent onderzoek van GOTTLIEB [2]), waarbij o.a. bleek, dat het optreden van hartstilstand bij den kikvorsch na inspuiting van een bepaalde hoeveelheid van een digitalispraeparaat niet alleen afhankelijk is van de hoeveelheid ingespoten vergift en van de resorptiesnelheid, maar vooral ook van de mate in welke die bepaalde digitalisachtige stof in het lichaam van den kikvorsch wordt onwerkzaam gemaakt, wordt „entgiftet". GOTTLIEB toonde n.l. aan, dat zeer snel, nadat de digitalis ingespoten is (reeds binnen een half uur), deze „Entgiftung" een aanvang neemt en — wat vooral belangrijk is — dat de verschillende digitalisachtige stoffen in zeer verschillende mate aan dit onwerkzaam maken blootstaan. In hoofdzaak kan men twee groepen onderscheiden. Aan de éene zijde staan stoffen als gitaline en de goed oplosbare „digitannoiden" (die o.a. in digipuratum voorkomen) die snel onwerkzaam gemaakt worden, zoodat het zeer dikwijls voorkomt, dat het kikvorschhart na inspuiting van een dosis, die in de nabijheid van de minimaal werkzame ligt, eerst stilstaat en na eenigen tijd weer gaat kloppen. Aan de andere zijde heeft men b.v. het strophantine, dat slechts in zeer geringe mate wordt onwerkzaam gemaakt. Tusschen deze beide groepen staat dan het digitoxine.

Reeds deze feiten maken, dat het door de Amerikaansche pharmacopee ingenomen standpunt onjuist wordt, maar nog des te meer is dit het geval, doordat GOTTLIEB tevens aantoonde, dat dit onwerkzaam maken der digitalisglucosiden des zomers een veel grootere rol speelt dan des winters, terwijl het strophantine èn 's zomers èn 's winters zeer weinig wordt „entgiftet". En hieruit volgt dus met zekerheid, dat de gevoeligheid, die een bepaalde reeks kikvorschen hebben zal tegen een bepaald digitalispraeparaat, bijv. een tinctuur van digitalis, niet kan worden beoordeeld door die gevoeligheid met strophantine te controleeren.

---

1) Deze voorschriften zijn niet bindend, maar een firma, die volgens de in de Amerikaansche Pharmacopee aangegeven methode haar praeparaten laat ijken, heeft het recht op het étiquet te vermelden „physiologically assayed and standardized according to the U. S. P. IX".

2) R. GOTTLIEB. Uber den Vergiftungs- und Entgiftungsvorgang bei der Digitalisvergiftung des Frosches. Arch. f. exp. Path. u. Pharmac. Bd. 83 p. 117, 1918.

HOOFDSTUK I

DIGITALIS-PRAEPARATEN.

Algemeene beschouwingen.

De digitalisachtige stoffen (hieronder worden, behalve digitalis, ook de andere stoffen verstaan, die een daarmede overeenkomende werking hebben, zooals strophantine, scilla enz.) zijn de eerste, waarvan langs physiologischen weg de sterkte werd bepaald. Reeds in 1865 namen FAGGE and STEVENSON [1]) proeven in die richting en in 1898 hebben JACQUET [2]) en HOUGHTON [3]) (het is moeilijk uit te maken, aan wien men in deze de prioriteit moet toekennen) het eerst met physiologische methoden galenische digitalis- (JACQUET) en strophantine-praeparaten (HOUGHTON) geijkt, met de bedoeling op deze wijze een constant praeparaat voor klinisch gebruik te verkrijgen. Sedert dien tijd hebben een groot aantal pharmacologen zich met deze zaak bezig gehouden. Het is niet noodig hier de talrijke mededeelingen te bespreken die over physiologische waardebepalingen van digitalis verschenen zijn, omdat men een voortreffelijk historisch overzicht (tot 1909) vinden kan in een publicatie van EDMUNDS & HALE (The physiological standardization of digitalis, Hygienic Laboratory Bulletin No. 48, Washington 1909). Slechts zeer in het kort zij aangestipt, welke vraagstukken sedert 1898 en thans voornamelijk aan de orde waren.

In de eerste plaats komt dan natuurlijk de vraag op den voorgrond, welke methode bij de physiologische waardebepaling van digitalisstoffen de voorkeur verdient. Men heeft als toets voor de werking der digitalis aangenomen: de kleinste doodelijke dosis voor kikvorsch, muis, cavia, konijn, kat en hond; men heeft gewerkt aan het geïsoleerde kikvorsch-, konijne- en kattehart;

---

1) FAGGE and Th. STEVENSON. Application of physiological tests for certain organic poisons, and especially digitalino. Reprinted from Guy's Hosp. Reports 1866 (geciteerd naar EDMUNDS on HALE.)

2) A. JACQUET. Korresp. Bl. für Schweizer Aerzte 1898, pag. 745.

3) HOUGHTON. Journ. Am. Med. Assoc. Chicago 1898, pag. 959.

men heeft de bloedsdrukmethode toegepast bij konijn, kat en hond en men heeft bij een aantal dier methoden nog weer verschillende werkwijzen gevolgd, verschillende criteria benut. Een beschrijving van vele dezer methoden met een kritische bespreking vindt men in de bovenvermelde mededeelingen van EDMUNDS & HALE.

De methoden, waarbij op het overlevende hart werd gewerkt, hebben met een enkele uitzondering [1]) geen ingang in de practijk gevonden. Dit schijnt verwonderlijk, want juist waar het geldt een stof als digitalis, die in het lichaam van het dier gebracht, zoo velerlei werkingen ontvouwt (invloed op het hart zelf, invloed op de vaten, op het vaguscentrum en vasomotorisch centrum) zou men verwachten, dat het geïsoleerde orgaan, daar het eenvoudige proefvoorwaarden biedt, de voorkeur zou verdienen. Toch bleek bij onderzoek, dat op deze wijze geen nauwkeurige uitkomsten te verkrijgen zijn. Het is moeilijk te zeggen, wat hiervan de oorzaak is. Vermoedelijk zal het de op blz. 13 besproken moeilijkheid zijn, dat kleine bijmengingen, die voor het gehééle dier niet schadelijk zijn, op het geïsoleerde orgaan een grooten invloed kunnen uitoefenen. Hierbij komt nog dat, zooals o.a. uit het onderzoek van v. WEIZSÄCKER [2]) bleek, sommige digitalisachtige stoffen (zooals gitaline) in het hart worden opgestapeld (gespeichert), andere (strophantine) veel minder, wat nieuwe verwikkelingen geeft. Dit zal ook wel de reden zijn, waarom het bepalen van de minimum dosis, die het kikvorschhart aan het toestel van WILLIAMS tot stilstand brengt — hoewel af en toe gebruikt o.a. door SCHMIEDEBERG — niet practisch bruikbaar bleek. Dat met het werken op het kikvorschhart aan de *Straub*canule geen goede uitkomsten kunnen worden verkregen, bleek o.a. uit het onderzoek van SLUYTERMAN [3]).

Ook die methoden, waarbij als criterium voor de werkzaamheid van het praeparaat de invloed op den bloedsdruk is genomen, hebben geen ingang gevonden. Wanneer digitalis bij een dier in een ader ingespoten wordt, heeft dit dikwijls een bloedsdrukstijging tengevolge en men heeft getracht in de mate van bloedsdrukstijging een maatstaf te vinden voor de sterkte van het digitalispraeparaat, maar zonder succes. Digitalis kan op zooveel wijzen den bloedsdruk beïnvloeden (door werking op het hart, op het vaguscentrum, op den vaatwand en op het vasomotorisch centrum) dat het eigenlijk niet verwonderlijk is, dat men hiermede geen constante resultaten krijgt.

Dat de bloedsdrukmethode geen goede uitkomsten geeft is jammer, want met de methode der kleinste letale dosis heeft men altijd het bezwaar, dat men bij het *dier* de toxische dosis onderzoekt, terwijl men bij den *mensch* de therapeutische gebruiken wil. Bestond er nu een vast verband tusschen deze beide waarden, m.a.w. was de concentratie-werkingscurve voor alle digitalisachtige stoffen voor *mensch* en *dier* gelijk, dan was dit bezwaar niet groot, maar een dergelijk vast verband bestaat zeer zeker

---

1) Miss S. SOWTON standaardiseert een bepaald praeparaat, n.l. digitalis tinctuur, op het overlevende zoogdierhart. Voor deze methode geldt, wat later ook van een andere methode (die van FOCKE) zal worden gezegd, n.l. dat ze in handen van een bepaald onderzoeker en met een scherp omschreven doel voortreffelijk bruikbaar kan zijn, zonder voor algemeene toepassing in aanmerking te komen.

(Zie kritiek van SOWTON op deze methode. Brit. Med. Journ. 1908, pag. 310).

2) V. v. WEIZSÄCKER. Einige Beobachtungen über die Verteilung sowie die arbeitsteigernde Wirkung von Herzglukosiden. Arch. f. exp. Path. und Pharmac. Bd. 81, pag. 247 1917.

Zie ook Bd. 72, pag. 347, 1913.

3) A. SLUYTERMAN. Zur allgemeinen Pharmacologie digitalisartig wirkender Subsstanzen.

Acad. proefschr., Utrecht 1911.

niet en daarom blijft de methode der minimum letale dosis altijd onnauwkeurig. Men zal dus in de toekomst steeds nog weer moeten trachten, een methode te vinden, waarbij als toets voor de sterkte van de digitalispraeparaten het *therapeutische* stadium en niet het *toxische* stadium der digitaliswerking wordt genomen.

Van de methoden, waarbij de kleinste doodelijke dosis voor een dier wordt gezocht, valt dadelijk nog één groep af. Wanneer een warmbloedig dier met digitalis wordt vergiftigd, is in vele gevallen de onmiddellijke oorzaak van den dood niet hartstilstand maar ademstilstand. Volgens EDMUNDS en HALE sterven, na toediening van een doodelijke dosis van digitalis, muizen en caviae *steeds* en katten *dikwijls* door ademstilstand. Voor konijnen is dit trouwens ook regel. Daar nu de werking op het ademcentrum zeker niet die werking is, die men als toets voor de bruikbaarheid van een digitalispraeparaat zou willen aanvaarden, moeten die werkwijzen, waarbij de minimum letale dosis voor deze warmbloedige dieren wordt gezocht, worden uitgeschakeld tenzij men gedurende het onderzoek kunstmatige ademhaling toepast. Voor kikvorschen geldt het genoemde bezwaar niet, omdat ademstilstand door dit dier verdragen wordt en dus de digitalis steeds den dood door hartstilstand verwekt.

HEINZ [1]) bepaalt bij zijn digitalisstandaardisaties de kleinste doodelijke dosis voor den kikvorsch en voor de muis (bij het laatste dier subcutaan en per os).

Tevens worden door hem bloedsdrukproeven bij konijnen en katten gedaan, maar dit is niet in strijd met het bovenvermelde, want hij gebruikt deze laatste methode alleen om qualitatief — niet om nauwkeurig quantitatief — de digitaliswerking te beoordeelen.

Van de vele methoden blijven dus tenslotte slechts die voor algemeen gebruik over, waarbij de minimum letale dosis wordt bepaald bij kikvorschen, katten en misschien ook bij konijnen, mits in de laatste gevallen kunstmatige ademhaling wordt toegepast.

Hoezeer de uitkomsten verschillen kunnen, indien de sterkte van een aantal digitalispraeparaten met verschillende physiologische methoden wordt bepaald, moge uit onderstaande tabel blijken, die aan de mededeeling van EDMUNDS en HALE is ontleend.

---

1) R. HEINZ. Wertbestimmung von Digitalispräparaten Merck's Jahresbericht, 1913, pag. 1.

Tabel 1[1]).

Preparations.	Lethal dose methods.				Frog hoart methods.			Blood pressur .
	Mice	Guinea pigs.	Twelve hour.	Cats.	One hour.	Focke	Per-fusion.	percent increase.
B. W. and Co.....	1	1	--	1	2	3	4	4
Mulford	1	4	—	4	1	1	2	2
Merrell	3	3	—	7	5	7	7	8
H. B. and W.	4	2	—	5	6	4	1	7
P. D. and Co.	5	4	—	2	3	7	5	5
N. B. and Co.	6	6	—	3	4	2	3	1
S. and D.........	6	6	—	6	7	5	6	6
Digitalone No. 1..	8	9	—	—	—	—	—	—
Lloyd Bros	9	8	—	9	8	6	8	10
Digitalone No. 3..	—	—	—	8	9	—	9	8
Digitalone No. 2..	—	—	—	10	—	—	—	5

Zij onderzochten 6 digitalis-praeparaten met verschillende methoden.

In de eerste kolom der tabel vindt men de namen der digitalis-praeparaten, in de overige kolommen is voor elk der gevolgde methoden aangegeven, in welke volgorde de praeparaten volgens die methode naar hun sterkte moeten worden gerangschikt. Van overeenstemming tusschen de uitkomsten met de verschillende methoden is in deze tabel geen sprake. Juist daarom is het nuttig, kennis ervan te nemen. Men zou geneigd zijn, uit deze tabel te besluiten, dat de physiologische waardebepalingen te onnauwkeurig zijn om te gebruiken. Deze conclusie zou echter voorbarig zijn. In de eerste plaats toch is boven reeds uiteengezet, dat verschillende methoden niet een aanwijzing omtrent de werking op het hart maar omtrent die op het ademcentrum geven. Bovendien leert deze tabel, dat men met het kiezen der werkwijze, die men in een bepaald geval aanwenden wil, uiterst voorzichtig moet zijn en dat men eigenlijk voor elk praeparaat en voor elke bereidingswijze van een digitalisstof een afzonderlijke methode zou moeten kiezen. Bij het éene praeparaat toch, zal de resorptie na een onderhuidsche inspuiting bij een kikvorsch zeer snel plaats vinden, bij een ander zal het zeer langzaam geschieden. Het eerste praeparaat zal dan met een methode kunnen worden geijkt, waarbij na korten tijd,

1) Ontleend aan EDMUNDS and HALE.

ca. 1/4 uur na de injectie, het resultaat van de werking op het hart wordt beoordeeld, (methode FOCKE), het andere praeparaat zal beter met een methode onderzocht kunnen worden, waarbij meer speelruimte is, met de 1 uur of 24 uur methode. En zoo zijn er tal van verschillen tusschen de, op verschillende wijzen bereide, digitalis-praeparaten, die maken, dat het ééne *wèl*, het andere *niet* met een bepaalde methode kan worden onderzocht. FOCKE geeft bijv. aan, dat de door hem uitgewerkte methode zeer voortreffelijk is voor het standaardiseeren van een 10% infuus, maar dat voor zuivere digitalisstoffen, zooals strophantine en digitoxine een andere kikvorschmethode (de 1 uur methode) beter is, terwijl een patentmiddel als digaleen, dat glycerine bevat, in het geheel niet op den kikvorsch kan worden geijkt.

Dit alles wijst er dus op, hoezeer — vooral bij de digitalis — geldt dat met de methoden geïndividualiseerd moet worden, en dat het bruikbaar zijn van een bepaalde werkwijze voor een bepaalde stof nog niet insluit, dat de methode ook voor andere digitalisstoffen benut kan worden.

***

Eén van de punten, die in de literatuur steeds naar voren zijn gekomen, is de vraag of inderdaad een physiologische waardebepaling voor digitalis noodig is en of men niet, wanneer men eenige voorzorgen in acht neemt, bladen van vrij constante werkzaamheid krijgt. Algemeen is men het er thans over eens, dat dit niet het geval is.

Een aantal onderzoekers hebben de sterkte van digitalisbladen van verschillende herkomst vergeleken en de meesten, BENNEVELD, BÜHRER, FRÄNKEL, EDMUNDS, GOTTLIEB zijn tot het resultaat gekomen, (zie EDMUNDS & HALE), dat de meest werkzame bladen ongeveer 4 × zooveel werkzame bestanddeelen bevatten, als de zwakste ; dit verschil is dus groot genoeg, om een physiologische waardebepaling van digitalis noodzakelijk te maken en tevens blijkt hieruit, dat zelfs een physiologische methode, met een fout van 10 à 20%, voorloopig nog met vrucht kan worden gebruikt.

Ook in ons land bestaan groote verschillen in werkzaamheid tusschen digitalis- en strophantinepraeparaten, die uit verschillende apotheken op eenzelfde recept zijn betrokken.

MAGNUS vond bij een onderzoek van digitalisinfusen van verschillende herkomst groote verschillen. Ik zelf vond, dat de digitalisbladen, die sedert 1916 door mij werden gestandaardiseerd, een valor hadden, die wisselde tusschen **2,8** en **4,8**. Bij verschillende strophantinetincturen vond ik waarden, die wis-

selden van 5 tot 15. A. FRÄNKEL [1]) vond zelfs voor verschillende strophantustincturen een verhouding in werkzaamheid van 1 : 65.

Van klinische zijde werd in ons land op de onbetrouwbaarheid van fol.digitalis en tinct. strophanti o.a. gewezen door PEL in zijn bekend leerboek over nierziekten.

Een laatste punt, dat voortdurend aan de orde kwam, was de vraag, of het niet voor de beoordeeling van de sterkte van digitalis voldoende is, het digitoxinegehalte chemisch te bepalen, zoodat men de physiologische waardebepaling zou kunnen missen. Welke bezwaren in het algemeen tegen deze werkwijze moeten ingebracht worden, is reeds op blz. 6—8 uiteengezet.

In het onderhavige geval zijn deze bezwaren te meer van belang, omdat niet mag worden aangenomen, dat ook maar *qualitatief* de werking van digitoxine met die van digitalis overeenkomt. GOTTLIEB en MAGNUS [2]) o.a. vonden, dat digitoxine in het dierexperiment vaatgebieden vernauwt, die door de andere digitalisglucosiden worden verwijd, terwijl LOEB [3]) aantoonde, dat digitoxine in tegenstelling met strophantine een contractie van de art. coronariae van het hart veroorzaakt, wat uit een therapeutisch oogpunt nadeelig is, zoodat men zeker niet de therapeutische waarde van digitalisbladen naar het digitoxinegehalte mag beoordeelen.

Bovendien is nog door vele onderzoekers, ZIEGENBEIN, BARGER en SHAW, FOCKE e. a. [4]), overtuigend bewezen, dat digitoxinegehalte en physiologische werking der digitalisbladen niet parallel gaan.

ZIEGENBEIN [5]) vond o.a. de volgende waarden.

Tabel 2.

MATERIAAL.	Digitoxine-gehalte in %.	Min. let. dosis in grammen per 100 gram kikvorsch
Digitalisbladen uit Noord Harz 1901.	0,33	0,03
,, ,, ,, ,, 1901.	0,163	0,03
,, ,, Zuid Harz 1901.	0,14	0,04
,, ,, ,, ,, 1901.	0,185	0,03
,, ,, Noord Harz 1901.	0,125	0,03
,, ,, Thüringen............	0,115	0,05
,, ,, van 1900	0,226	0,06
,, ,, Harz gepulveriseerd ..	0,235	0,05
,, ,, ,, ,, ..	0,18	0,05

1) A. FRÄNKEL. Ueber die physiologische Dosierung von Digitalispreparaten. Therapie der Gegenw. Maart 1912.

2) R. GOTTLIEB und R. MAGNUS. Ueber die Gefässwirkung der Körper der Digitalisgruppe. Arch. für exp. Path. und Pharmac. Bd. 47, pag. 135, 1901.

3) O. LOEB. Ueber die Beeinflüssung des Koronarkreislaufs durch einige Gifte. Arch. f. exp. Path. und Pharm. Bd. 51, pag 64,1903.

4) Litt. zie bij EDMUNDS and HALE.

5) ZIEGENBEIN. Arch. d. pharm. 1902, pag. 454.

De onderlinge pharmaceutische groothandel te Utrecht heeft in eenige gevallen van de bladen, die door mij met physiologische methode werden geijkt, het digitoxinegehalte chemisch laten bepalen. De hierbij gevonden waarden zijn in tabel 3 samengebracht.

Tabel 3.

MATERIAAL.	Datum van onderzoek.	Valor volgens methode HATCHER.	Digitoxine-gehalte.
Digitalisstelen	4/VII '17	2,2	0,355 %
„ bladeren	10/VI '17	3,—	0,17 „
„ bladeren	21/IX '17	4,82	0,52 „
„ bladeren	14/I '18	4,1	0,42 „

Uit deze gegevens blijkt duidelijk, dat een chemische bepaling van het digitoxinegehalte der digitalisbladen niet voldoende is en dus de physiologische waardebepalingen noodig zijn.

***

Thans moet de techniek der bruikbare physiologische waardebepalingen worden besproken.

Toegepast, maar niet in algemeen gebruik genomen zijn de volgende werkwijzen :

Doorstrooming van het zoogdierhart (SOWTON).

Doorstrooming van het kikvorschhart met het toestel van WILLIAM (SCHMIEDEBERG, HOLSTE).

Bepaling der letale dosis bij muizen (HEINZ, EDMUNDS & HALE).

Bloedsdrukmethode (HEINZ, EDMUNDS & HALE).

In aanmerking voor algemeen gebruik komen :

1e de methode van FOCKE.

2e de 1 uur- (resp. 24 uur-) kikvorschmethode.

3e de Hatchermethode.

Bij beide kikvorschmethoden wordt als criterium voor de digitaliswerking genomen het optreden van den systolischen hartstilstand, dus het toxische effect. Bij de eerste methode wordt het vergift bij den intacten kikvorsch ingespoten, en genoteerd, na hoeveel minuten het hart stilstaat. Bij de tweede methode wordt de digitalis eveneens bij een kikvorsch ingespoten, maar wordt nu nagegaan, of na 1 uur (resp. 24 uur) het hart al dan niet in systole stilstaat. Oppervlakkig beschouwd, lijken deze methoden dus heel veel op elkaar, in werkelijkheid echter bestaat groot verschil.

Methode FOCKE. Een bepaling volgens deze methode geschiedt als volgt.

Een kikvorsch (rana temporaria) wordt gewogen, op een kikkerplank opgespannen en zonder narcose en zonder eerst de hersenen

van het dier te verwoesten, wordt de borstkas geopend en het hart vrij gelegd. Nu wordt in een dijlymphzak een bepaalde hoeveelheid van een digitalis infuus (dat zoo sterk wordt gemaakt, dat slechts weinig vloeistof behoeft te worden gebruikt) ingespoten en opgeteekend, in hoeveel tijd het hart in systole stilstaat. Daar voorkamer en kamer niet altijd gelijkertijd stilstaan, wordt als toets de stilstand van den ventrikel genomen. Het moet echter een stilstand in systole zijn, in maximale contractie dus, waarbij de ventrikel van het kikvorschhart geheel bleek ziet.

De sterkte van het gebruikte digitalispraeparaat, de valor (V) dus, wordt nu als volgt berekend.

Is p het gewicht van den kikvorsch in grammen, d de hoeveelheid vloeistof, die ingespoten is, t de tijd in minuten, die verstreken is vanaf de injectie tot het oogenblik, dat systolische hartstilstand optrad, dan is $v = \frac{p}{d.\,t.}$. Wordt v nu nog vermenigvuldigd met de verdunning, waarin de digitalis is ingespoten, dus bijv. bij een digitalisinfuus 1/600 met 600, dan krijgt men den valor V, die door 1000 gedeeld wordt, zoodat getallen van één cijfer gevonden worden.

Met deze methode bereikt FOCKE zeer goede resultaten. De fout bedraagt onder bepaalde omstandigheden slechts eenige percenten, een geheele standaardiseering van een praeparaat kan in handen van FOCKE in 1 uur klaar zijn en er zijn niet meer dan 12 kikvorschen voor noodig. FOCKE's werkwijze schijnt dus op het eerste gezicht zeer eenvoudig en alleszins aanbevelenswaard. Om echter dergelijk goede uitkomsten te kunnen verkrijgen, moet een groot aantal voorzorgen in acht genomen worden, die FOCKE zeer uitvoerig beschrijft [1]). De hoofdzaken zijn de volgende:

Aangezien de gevoeligheid van kikvorschen gedurende de verschillende jaargetijden sterk wisselt (en ook afhankelijk is van de omstandigheden waaronder zij bewaard zijn), kan niet zonder meer bij de berekening van den valor de boven gegeven formule benut worden. Elken dag, dat men een bepaling wil verrichten, moet eerst van te voren met een praeparaat van bekende sterkte nagegaan worden, hoe de gevoeligheid van een reeks kikvorschen, die men voor dien dag ter beschikking heeft, is. FOCKE gebruikt als standaardpraeparaat een digitalisinfuus van bladen, die een valor 4 hebben en hij geeft aan, dat een dergelijk standaardpraeparaat — mits goed bewaard — jaren lang (volgens zijn ervaring van 1903 tot 1912) constant van werking blijft. Blijkt nu, dat op een bepaalden dag de kikvorschen abnorm gevoelig zijn, zoodat het standaardpraeparaat een bijv. 15% te hooge waarde geeft, dan staan hem 2 wegen open: óf hij kan met de kikvorschen, zooals ze zijn, doorwerken en dan den valor, dien hij voor het onbekende monster vindt, met 15% verlagen, óf hij kan de gevoeligheid der dieren veranderen. Aan dit laatste geeft hij de voorkeur. Den eersten dag van een serie onderzoekingen moet natuurlijk altijd de valor omgerekend worden, omdat het wijzigen

---

1) FOCKE. Die Weiterentwicklung der physiologischen Digitalisprüfung. Zeitsch. f. exp. Path. Bd. 14, p. 262, 1913.

FOCKE. Weitere Schritte zur Gleichmässigkeit der officinellen Digitalispraparate. Zeitschr. f. exp. Path. Bd 16, p. 443, 1914.

van de gevoeligheid der kikvorschen reeds eenige uren voor het begin der ijking moet geschieden. Dit laatste, het veranderen der gevoeligheid, doet FOCKE door de temperatuur te veranderen, waarbij de dieren bewaard worden, en wel is hier van belang de temperatuur vóór en gedurende de proef. Hoe de voorbehandeling moet geschieden, wordt door FOCKE nauwkeurig vermeld, daar dit een zeer essentieel punt is.

FOCKE's voorschrift luidt in het kort als volgt.

Gedurende de maanden April en Mei worden geen bepalingen verricht, de kikvorschen reageeren dan zeer onregelmatig. Gedurende onweer wordt niet geijkt. De wintermaanden zijn de beste. De kikvorschen worden in de maanden September en October gevangen, zij worden in een kelder bij 5°—7° C. bewaard (niet op ijs). 20 uren voor het begin van een proef worden de kikvorschen in open glazen schalen, in een kamer gebracht waar een temperatuur van 14 —15° C. is en wel moeten de schalen tegen een binnenmuur staan, dicht naast den thermometer. Deze laatste hangt tegen den muur en is daarvan door dik vilt geïsoleerd. Bij deze temperatuur van 14—15° C. blijven de dieren 10 uur. Dan wordt de kamer in den loop van 4 uur verhit op 20° en de dieren worden nu nog 5 uur bij deze temperatuur gehouden, terwijl ook gedurende de ijking ervoor gezorgd wordt (FOCKE heeft tot dat doel verwarmbare kikvorschplanken laten vervaardigen) dat de temperatuur op 20° C. blijft. De temperatuur van 20° is een gemiddelde, in sommige tijden van het jaar moet 19° genomen worden, in andere 21° of zelfs 23°, dit hangt niet alleen af van den tijd van het jaar maar ook van de omstandigheid of pas gevangen kikvorschen of kikvorschen uit den kelder benut worden. Wanneer nu bij het begin der ijking de dieren uit de glazen schalen op de onderzoekingstafel gebracht worden, dus in een omgeving waar meer luchtwisseling is, dan is er kans, dat zij door snelle verdamping afkoelen. Daarom worden de kikvorschplanken 1 à 2 graden hooger gehouden, dan anders noodig zou zijn. Met het oog op deze afkoeling der kikvorschen moet de tafel, waaraan gewerkt wordt, niet te dicht bij het raam zijn, er n.l. ongeveer 2 M. vandaan staan. Er moeten geen deuren open staan en een kleine kamer is beter dan een groote. Nadat de kikvorsch is opgespannen en gewogen wordt het hart gevensterd, d.w.z. het borstbeen van het dier wordt grootendeels verwijderd, nadat de beide claviculae zijn doorsneden en daarna wordt het pericard geopend. Door lichten druk op de buik wordt het hart naar voren gebracht, zoodat het gemakkelijk kan worden waargenomen. Nu wordt het te onderzoeken vergift in een dijlymphzak ingespoten en nagegaan na hoeveel minuten het hart in systole stil staat.

FOCKE werkt bij voorkeur met het 10% infuus van digitalisbladen en spuit 1/50 van het lichaamsgewicht van den kikvorsch in. Afhankelijk van de sterkte van de benutte bladen zal het korter of langer duren, voordat het hart stilstaat. De gemiddelde tijd, die gevonden wordt, is 10—12 minuten. Bij vroegere onderzoekingen heeft FOCKE veelal de abnorm lage- en abnorm hooge tijden moeten uitschakelen. Sedert hij echter steeds inspuit 1/50 lichaamsgewicht van het 10% infuus, is dit niet meer noodig. Wanneer echter de tijd langer is dan 30 minuten, wordt de methode zeer onbetrouwbaar want, wanneer het hart na 1/2 uur niet stil staat, doet het dat als regel volgens FOCKE na 1 uur en zelfs na 24 uur ook niet. Trouwens in deze richting doen zich geen moeilijkheden voor, want wanneer de bladen zoo weinig werkzaam zijn, dat de tijd langer dan 30 minuten zou duren, dan is FOCKE's methode eenvoudig niet bruikbaar meer. Hij geeft n.l. uitdrukkelijk aan, dat zijn werkwijze alleen benut kan worden indien de valor der bladen niet lager dan **3.3** en niet hooger dan **7.3** is. Het eigenaardige van de methode — en hierin wijkt zij van de andere

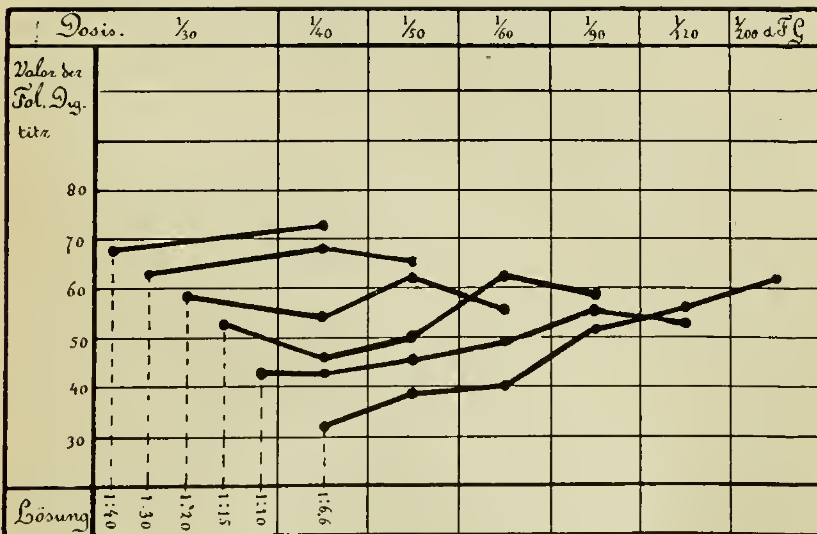
kikvorschmethoden af — is dat, vooropgesteld dat de gevoeligheid der dieren is geregeld, steeds maar één reeks van inspuitingen behoeft te worden verricht. Men neemt het gemiddelde der gevonden waarden en men heeft dan óf den valor nauwkeurig, wanneer n.l. de waarde tusschen 3.3 en 7.3 ligt, óf men weet dat de methode voor de bladen die men onderzoeken wil, niet bruikbaar is.

Focke [1]) geeft voor de omstandigheid, dat alleen voor een infuus van digitalisbladen van bepaalde sterkte de methode bruikbaar is, een verklaring.

Bij zijn onderzoekingen is de tijd de belangrijkste factor en hij wordt in zijn formule voor de berekening van den valor omgekeerd evenredig met de sterkte van het onderzochte praeparaat gesteld. Maar dit is natuurlijk alleen dan juist, indien een tweemaal zoo sterk praeparaat ook tweemaal zoo snel wordt geresorbeerd, en dus 2-maal zoo snel tot werking komt. En dit nu is niet het geval, zooals Focke kon aantoonen.

Heeft men van een 10% infuus van een bepaalde digitalissoort 1/50 van het lichaamsgewicht bij kikvorschen ingespoten en een bepaalden valor gevonden, dan zou men om een tweemaal zoo sterk infuus te kunnen ijken, dezelfde hoeveelheid van het infuus kunnen inspuiten en verwachten, dat de tijd die verstrijkt tusschen inspuiting en hartstilstand 2-maal zoo klein zou worden. Dit geeft echter geen goede uitkomsten, want bij te kleinen tijdsduur wordt de methode te onnauwkeurig. Men moet dan dus of een zwakkere oplossing inspuiten, of van dezelfde oplossing een kleinere hoeveelheid. Op beide manieren krijgt men onjuiste uitkomsten. Want Focke vond, dat uit een sterke oplossing relatief minder van de werkzame bestanddeelen in een bepaalden tijd tot werking komen (worden „ausgenützt") dan uit een zwakke oplossing en bovendien wordt uit een groote hoeveelheid ingespoten oplossing relatief minder „ausgenützt" dan uit een kleine hoeveelheid van dezelfde concentratie. Deze beide omstandigheden zijn bij het gebruik van een methodo, waarbij na 1 uur of nog langeren

Fig. 7 [2]).



1) l. c. 1913.

2) Ontleend aan Focke.

tijd wordt beoordeeld of het hart al dan niet stilstaat, natuurlijk niet van bolang, maar bij een methode als deze, waar een vertraging van 2 minuten al een fout van bijna 20% geven kan, is dit heel wat anders. En hoe sterk de invloed van deze „ausnützungs" verhoudingen zijn kan, blijkt uit de onderzoekingen, die FOCKE hieromtrent verrichtte.

Hij ging uit van een bepaald 10% digitalisinfuus en bereidde hieruit door indampen of verdunning infusen met een sterkte van 1 : 6,5 ; 1 : 14 ; 1 : 20 ; 1 : 30 en 1 : 50. Deze infusen werden nu geijkt en wel werd daarbij den dieren van elk infuus verschillende hoeveelheden ingespoten, wisselend van 1/30—1/300 lichaamsgewicht. De uitkomsten van dit onderzoek, die buitengewoon leerrijk zijn, zijn door FOCKE in curve gebracht, zie fig. 7.

In deze figuur is op de abcis (bovenaan) uitgezet de ingespoten hoeveelheid vloeistof, uitgedrukt in deelen van het lichaamsgewicht van den kikvorsch. Bij de verschillende curven is met een stippellijn aangegeven (onderaan) welke verdunning van het standaardinfuus was benut en op de ordinaat eindelijk is voor elke hoeveelheid van elk infuus de valor uitgezet, die door berekening met FOCKE's formule werd verkregen.

Uit fig. 7 blijkt nu, dat elke verdunning van het infuus een verschillenden valor geeft. Wordt van het infuus 1 : 6.6 bijv. 1/40 van het kikvorschgewicht ingespoten, dan wordt een valor 3 gevonden, spuit men van het infuus 1 : 40, eveneens 1/40 van het kikvorschgewicht in, dan is de valor 7. En ook voor een infuus van dezelfde concentratie wisselt de valor zeer, naarmate men meer of minder inspuit. Zeer sterk is dit verschil o.a. bij het infuus 1 : 6.6. Wordt van dit infuus 1/40 ingespoten, dan is de valor 3, spuit men 1/200 in, dan wordt relatief in een zekeren tijd meer geresorbeerd en stijgt de valor tot 6. De boven besproken fouten komen dus in deze curve wel zeer sterk tot uiting. Bestonden deze fouten niet en was de methode voor alle der benutte verdunningen en voor alle ingespoten hoeveelheden bruikbaar, dan moest een horizontale lijn bij valor 4,4 gevonden zijn, omdat het gebruikte standaardinfuus een valor 4.4 had. Uit de figuur blijkt nu, dat de curve, die het meest nadert tot een horizontale lijn bij valor 4.4 juist de curve van het 1 : 10 infuus is en wel als daarvan wordt ingespoten 1/30—1/50 van het lichaamsgewicht. Tevens blijkt, uit het verloop der verschillende curven nog, dat de grootste fout wordt veroorzaakt door het veranderen der concentratie van de ingespoten vloeistof, want het niveau der verschillende curven ligt ver uiteen. Veel geringer is de fout die gemaakt wordt door grootere of kleinere hoeveelheden van eenzelfde verdunning in te spuiten, want op een enkele uitzondering na (infuus 1 : 6.6) loopen de curven elk op zich zelf vrij goed horizontaal.

FOCKE heeft nu uit de gevonden waarden berekend, voor welken valor de methode bruikbaar is wanneer 1/50 van het lichaamsgewicht wordt ingespoten, en hij vond dat bij een infuus met een valor 7.3 de fout —4% bedroeg, bij een infuus met een valor 3.3 is de fout ongeveer +6%. Hieruit besluit hij dus, dat in de zone tusschen 3.3—7.3 goede uitkomsten worden verkregen. Daalt de valor echter, dan stijgt de proeffout aanzienlijk, want bij een valor 2.4 is de fout 17%, bij valor 1.6 is de fout 31% en bij valor 1.2 zelfs 41%.

Door het laten wisselen van de ingespoten hoeveelheid van de vloeistoffen wordt slechts een fout van 18% verkregen. Maar dit geldt alleen voor het 10% infuus van digitalis. Want in een ander onderzoek vond FOCKE dat voor gitaline bijv. de fout, die verkregen wordt door de hoeveelheid ingespoten vloeistof te veel te laten wisselen, 100% bedraagt. Blijkbaar bestaan daarbij dus andere verhoudingen.

Steeds dus komt weer naar voren dat de methode slechts goed bruikbaar is, indien het 10% infuus wordt benut en 1/30—1/60 (later geeft FOCKE op 1/50) lichaamsgewicht wordt ingespoten, behalve dan nog de overige voorzorgsmaatregelen die moeten worden genomen.

Als voordeel van zijn methode geeft FOCKE nog aan, dat men snel werken kan, omdat elke waarneming maar 1/4 à 1/2 uur of

korter duurt en dat men slechts 10 à 12 kikvorschen voor een bepaling noodig heeft. Voor een waardebepaling wordt n.l. bij voorkeur het gemiddelde uit 5 waarden genomen. Voor men begint, moet men de gevoeligheid van de kikvorschen bepalen en die gevoeligheid eventueel wijzigen en controleeren, zoodat men zeker wel voor elke ijking op 10—12 kikvorschen rekenen mag.

Voordeelen van FOCKE's methode zijn dus:

1e. Groote nauwkeurigheid, indien alle voorzorgen, die FOCKE aangeeft, worden in acht genomen, bij het ijken van die digitalisbladen, die een sterkte hebben zooals dat in Duitschland gewoonlijk voorkomt n.l. van 3.3 tot 7.3. De proeffout bedraagt dan bij goed werken 4—6%.
2e. Er zijn weinig kikvorschen noodig.
3e. De uitkomst van het onderzoek is snel bekend.

Hiertegenover staan als nadeelen:

1e. Het onderzoek volgens de methode FOCKE eischt een niet geringe ervaring. Ongetwijfeld bereikt FOCKE met zijn methode een groote graad van nauwkeurigheid binnen de grenzen, die hij gesteld heeft. Maar er is gerede aanleiding om aan te nemen, dat een minder ervaren onderzoeker minder gunstige resultaten hebben zal. Toegegeven moet worden, dat velen, die zich over onjuiste uitkomsten met de methode beklagen niet — zooals FOCKE steeds weer betoogt — al die voorzorgen hebben genomen, die zeker noodig zijn.
2e. In het bizonder voor Holland bestaat het nadeel, dat juist bij de waarden, die de Hollandsche digitalisbladen veelal hebben (ca. 3%), de methode onzuiver wordt. Voor gebruik in Holland zou de methode dus — volgens het voorbeeld van FOCKE — opnieuw moeten worden uitgewerkt
3e. De methode is eigenlijk alleen goed bruikbaar voor het 10% infuus van digitalisbladen. Voor andere digitalispraeparaten moet een der andere methoden worden benut. Het zou wellieht mogelijk zijn,om ook voor andere praeparaten de methode bruikbaar te maken, dit zou dan voor elk bizonder geval naar het voorbeeld van FOCKE moeten worden onderzocht. Voor zuivere gitaline en strophantine is volgens FOCKE de methode bruikbaar.
4e. Als laatste nadeel van FOCKE's methode moet nog worden vermeld, dat bij den intacten kikvorsch de borstkas moet worden geopend. EDMUNDS, en WORTH HALE verwerpen reeds daarom deze werkwijze. Zij hebben overigens aangetoond, dat het mogelijk is den kikvorsch voor de proef te onthersenen, men moet dan echter zeer tegen bloedverlies waken.

De 1 uur- (resp. 24 uur-) methode.

De techniek dezer methode is uiterst eenvoudig. Een kikvorsch (evenals bij de methode van FOCKE worden alleen temporariën gebruikt) wordt gewogen en daarna de digitalis ingespoten in dij- of borstlymphzak. De concentratie van het vergift wordt zoodanig gekozen dat niet meer dan ongeveer 1/40 à 1/60 van het lichaamsgewicht van den kikvorsch behoeft te worden ingespoten. Na 1 uur (resp. 24 uur) wordt de kikvorsch gedood en nagegaan of het hart in systole stilstaat. Door de doseering te wisselen kan men de minimale dosis zoeken, die per Gr. kikvorsch noodig is om het hart in den bepaalden tijd tot stilstand in systole te brengen. Deze dosis wordt dan een „Froscheinheit" genoemd. Natuurlijk kan men ook de sterkte van het digitalis-monster vergelijken met die van een bekend praeparaat en dan de sterkte evenals bij de methode van FOCKE uitdrukken door een getal, dat den „valor" aangeeft. Het gebruik van het begrip „Froscheinheit" heeft geen bezwaar, als men maar niet de fout maakt van te meenen dat de *therapeutische waarde van verschillende praeparaten voor den mensch* in „Froscheinheiten" kan worden uigedrukt, zoodat 100 Froscheinheiten digitalisinfuus een even sterke werking zouden hebben als 100 „Froscheinheiten" strophantustinctuur.

Het spreekt vanzelf, dat al die factoren, die op het resultaat van de methode van FOCKE invloed uitoefenen en daar uitvoerig besproken zijn, hier ook van invloed zijn. Maar het voordeel van de 1 uur-methode is juist dat die invloed veel geringer is dan bij de methode van FOCKE en vooral geldt dit, wanneer men niet — zooals GOTTLIEB vroeger deed — slechts een half uur wacht alvorens den kikvorsch te dooden, maar 1 uur laat verloopen.

Kleine verschillen in resorptiesnelheid, die bij FOCKE's methode een groote rol spelen (omdat daar eenige minuten vertraging in de resorptie dadelijk afwijkingen van tientallen percenten veroorzaken) zijn bij de 1 uur-methode van ondergeschikt belang. Vrij algemeen neemt men n.l., aan dat, wanneer het kikvorschhart na een uur niet stilstaat, het dit dan na langeren tijd ook nog niet doet.

STRAUB [1]) heeft korten tijd geleden den invloed van den tijd bij de hier besproken methode nauwkeurig nagegaan. Hierbij bleek, dat bij gebruik van chemisch zuivere stoffen, strophantine, digitoxine e.a., de waarden, die bij de 1 uur-methode gevonden werden, goed overeenstemden met die, welke gevonden worden, wanneer zeer lang, b.v. 24 uur, na de injectie gewacht wordt, alvorens wordt nagegaan, of het hart stilstaat.

STRAUB geeft op grond van zeer talrijke waarnemingen aan, dat „eine Dosis (bedoeld wordt van een chemisch zuivere stof), die nach 2 Stunden nicht getötet hat, es überhaupt nicht tut".

---

1). W. STRAUB. Ueber Messung der Resorbierbarkeit von Digitalisglycosiden. Arch. f. exp. Path. und Pharmac. Bd. 80, pag. 72, 1917.

Voor galenische praeparaten bestaat, volgens STRAUB, hieromtrent niet zulk een groote zekerheid. Mogelijk is dus, dat, als men in plaats van 1 uur een langeren tijd wacht, men de methode wat gevoeliger maakt. HOUGHTON wacht b.v. 12 uur. Men kan dan nog verder gaan en 24 uur na de injectie wachten en dan eenvoudig nazien, of de ingespoten kikvorschen nog leven of niet. Het kriterium wordt daardoor scherper en de methode eenvoudiger, vooral ook omdat kleine wisselingen in de temperatuur, waarbij de kikvorschen gedurende die 24 uur worden bewaard, niet van grooten invloed zijn. Neemt men de 24 uur-methode, dan heeft men als groot nadeel, dat het dagen kan duren, voor men met een standaardisatie gereed is. Bovendien, als men zich houdt aan het principe, om alleen gelijksoortige praeparaten tegen elkaar te standaardiseeren, b.v. alleen een infuus tegen een infuus, zullen verschillen in resorptiesnelheid niet zulk een grooten invloed hebben en zal 1 uur wachten waarschijnlijk voldoende zijn.

Zooals boven reeds is uiteengezet, is door GOTTLIEB's [1]) onderzoek een nieuwe factor bij de beoordeeling ingevoerd. GOTTLIEB vond n.l. dat een aantal digitalisstoffen zoo snel in het lichaam van den kikvorsch worden onwerkzaam gemaakt, dat het herhaaldelijk voorkomt, dat het kikvorschhart na een bepaalde dosis *eerst* stilstaat en later weer gaat kloppen.

Een van de eerste gevolgtrekkingen, die men hieruit maken kan, is deze, dat bij digitalisstoffen, die in aanzienlijke mate worden onwerkzaam gemaakt, met de 1 uur-methode een geheel andere waarde wordt gevonden dan met de 12 uur- of de 24 uur- of met de z.g. „zeitlose" methode (zie onder). En wijl niet alle digitalisachtige stoffen in dezelfde mate worden onwerkzaam gemaakt (strophantine b.v. haast in het geheel niet) bestaat tusschen de waarden die met de 1 uur- en met de 24-uur methode worden gevonden niet bij alle praeparaten dezelfde verhouding.

Op grond van zijn onderzoekingen geeft GOTTLIEB aan welke tijdsduur bij het ijken van verschillende digitalisachtige stoffen de beste is.

Zelf heeft hij vroeger de ½-uur methode gebruikt, later ging hij tot ¾-uur over. Deze korte tijd was voldoende bij het onderzoek van de zeer goed oplosbare, in het digipuratum voorkomende „digitannoiden" die ook snel geresorbeerd worden. In 1911 gaf GOTTLIEB [2]) dus nog het voorschrift slechts tot ¾ uur na de injectie te wachten. Later — bij het onderzoek ook van andere stoffen, zuivere digitalisglucosiden, ook strophantine, nam GOTTLIEB 1 uur [3]). Thans staat hij op het standpunt, dat voor een aantal stoffen, die snel geresorbeerd worden (gitaline, de digitannoiden enz.) de 1 uur-methode voldoende is, maar dat voor andere praeparaten b.v. alcoholische extracten van digitalisbladen 2 uur noodig is.

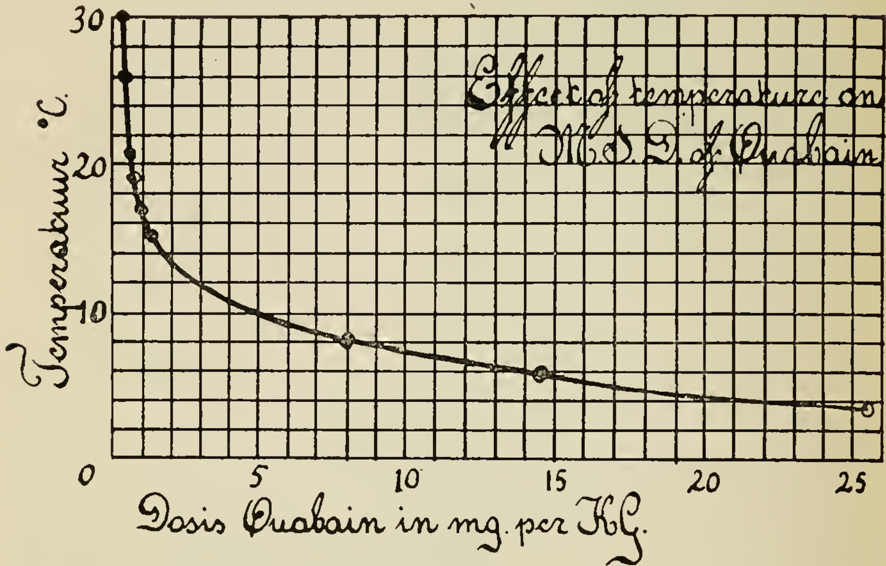
Vermeldenswaard is nog, dat GOTTLIEB reeds onmiddellijk na de inspuiting het hart van den kikvorsch blootlegt, zoodat hij voortdurend den toestand van het hart kan beoordeelen en nauwkeurig kan nagaan, wanneer het stilstaat.

Wat dus tenslotte in een bepaald geval beter zal zijn, de 1 uur- of de 24 uur-methode (½ uur is wel zeker te kort) is van te voren niet te zeggen. Dit zal voor elke stof en voor elke bereidingswijze afzonderlijk moeten worden onderzocht. In ieder geval zal men echter — ook al behoeft men dan niet al die voorzorgen te nemen die FOCKE bij zijn werkwijze noodig acht — met de temperatuur en met den toestand van de dieren rekening moeten houden. SOLLMANN onderzocht den invloed van de temperatuur op de werking van ouabaine op den kikvorsch bij gebruikmaking van de 1 uur-methode. Hoe groot de invloed van de temperatuur is bij een stof, die zooals ouabaine betrekkelijk langzaam geresor-

(1) R. GOTTLIEB loc. cit.
(2) R. GOTTLIEB, Münch. Med. Woch. 1911 pag. 1.
(3) R. GOTTLIEB, id. 1914 pag. 813.

beerd wordt, kan blijken uit fig. 8, die aan een mededeeling van SOLLMANN is ontleend [1]).

Fig 8.



Het spreekt vanzelf, dat ook bij de 1 uur-methode met de wisselende gevoeligheid der kikvorschen moet worden rekening gehouden, zoodat het begrip „Froscheinheit" ook hierdoor vager wordt. Wil men dus de sterkte van een praeparaat in „Froscheinheiten" uitdrukken,dan moet men evenals bij de methode FOCKE door inspuitingen met een standaardpraeparaat telkens nagaan hoe het met de gevoeligeid der kikvorschen staat. En ook hierbij moet de regel gevolgd worden, dat een infuus alleen tegen een infuus en een tinctuur alleen tegen een tinctuur kan worden geijkt.

De Amerikaansche Pharmacopee Ed. IX staat, zooals boven reeds is uiteengezet, op dit standpunt niet, zij eischt, dat de gevoeligheid der kikvorschen elken dag wordt onderzocht door na to gaan hoe ze op *ouabaine* (g-strophantine) reageeren, onverschillig of daarna een strophantus- of een digitalispraeparaat zal worden geijkt. Is de gevoeligheid tegen ouabaine bepaald, dan wordt het onbekende monster ingespoten en de waarde, die daarbij gevonden wordt, moet dan nog met inachtneming van de uitkomsten der ouabaine bepaling van dien dag naar den standaard van het onderzochte praeparaat worden omgerekend. Voor verschillende digitalis-, strophantus- en scilla praeparaten geeft n.l. de Am. Ph. de standaarddosen die hieronder volgen.(1)

1) T. SOLLMANN. The influence of temperature and concentration in the quantitative reaction of the heart to ouabain. Journ. of Pharm. and exp. therap. Vol. VI pag. 533 1915.

2) U. S. A. Pharmacopoeia Ed. IX pag. 608.

	Gramme or mil. for each gramme of body weight of frog.
standarddose of ouabain	0.000 000 5
Digitalis	
Leaves (in the form of tincture)	0.0006
Fluidextract	0.0006
Tincture	0.006
Strophantus	
Seed (in the form of tincture)	0.000 006
Tincture	0.000 06
Squill	
Dried squill (in the form of tincturo)	0.0006
Fluidextract	0.0006
Tincture	0.006

Hoe nu in een bepaald geval de berekening moet geschieden, kan blijken uit het volgende voorbeeld, dat de Amerikaansche Pharmacopee geeft.

Stel, dat een digitalistinctuur moet worden geijkt en dat uit de voorafgaande ouabaineinspuitingen is gebleken, dat dien dag 0.000 000 75 gram ouabaine noodig is per gram kikvorsch, dan kan uit de volgende evenredigheid worden gevonden, hoe groot de dosis van een standaardtinctuur van digitalis dien dag zou moeten zijn om bij de kikvorschen hartstilstand in systole teweeg te brengen.

standaarddosis van ouabaine	:	gevonden dosis ouabaine	=	standaarddosis tinct. digit.	:	dosis der tinct. digit. die dien dag noodig zou zijn.
dus 0.000 000 5	:	0.000 000 75	=	0.006	:	x

Dien dag zal dus 0.009 gram van de standaarddosis tinct. digitalis noodig zijn. Bij de ijking van de tinctuur van onbekende sterkte zal deze dus zooveel moeten worden verdund of ingedampt dat van deze tinctuur ook per gram kikvorsch 0.009 gram blijkt noodig te zijn om het hart in systole te doen stil staan.

Op blz. 19 is reeds uitvoerig besproken, dat deze berekening niet geheel juiste uitkomsten geven kan, omdat eventueele veranderingen in de gevoeligheid der kikvorschen voor digitalis en ouabaine niet parallel gaan, wat o. a. door de onderzoekingen van GOTTLIEB is bewezen. Daarbij komt, dat het absoluut niet zeker is, dat de getallen, die in de Amerik. Pharmacopee in de lijst der standaarddosen zijn opgegeven in de juiste verhouding tot elkaar staan. En ten slotte is de heele gecompliceerde berekening niet noodig, omdat er niet het minste bezwaar bestaat om, althans voor het strophantine en voor de digitalis, afzonderlijke standaardpraeparaten in voorraad te houden, waartegen kan worden geijkt. Voor de strophantus zou ouabaine kunnen worden behouden of de strophantine-soort, die in het te onderzoeken praeparaat voorkomt; voor de digitalispraeparaten zouden bladen in poedervorm als standaard kunnen worden bewaard. Of voor de scilla een vorm bestaat waarin het jaren lang kan worden bewaard zonder in werkzaamheid achteruit te gaan is mij niet bekend.

Van de overige voorschriften, die de Am. Ph. voor de 1 uur-methode geeft, mogen de volgende vermeld worden.

De te benutten kikvorschen (rana viridis of rana pipiens) moeten gezond zijn en van dezelfde soort, en liefst 15—25 Gr. wogen. Ze moeten worden bewaard op een koele plaats (niet warmer dan 15° C.) in bakken waarin zich een laag water bevindt. Het water moet horhaaldelijk worden ververscht. Een uur voordat een ijking beginnen zal wordt een voldoende aantal kikvorschen in de werkkamer gebracht en tot op 0,1 Gr. nauwkeurig gewogen. Daar wordt elke kikvorsch in een afzonderlijk hokje van ijzergaas gebracht, dat in een grooteren bak geplaatst wordt waarin zich water bevindt tot een diepte van 1 c.M. en van een temperatuur van 20° C. Gedurende de ijking moet de temperatuur van dit water nauwkeurig op 20° gehouden worden.

De verschillende te onderzoeken vloeistoffen worden vanuit den mond van het dier in de borstlymphzak ingespoten. De hoeveelheid vloeistof mag niet meer bedragen dan 0.015 c.M^3. per Gr. kikvorsch (dat komt dus overeen met 1/66 van het lichaamsgewicht).

Van digitalis wordt onderzocht de tinctuur of het fluidextract. Het alcoholgehalte van deze vloeistoffen mag niet meer dan 20 % bedragen.

1 uur na de inspuiting wordt de kikvorsch gedood en het hart blootgelegd. Positief is een bepaling indien de ventrikel stilstaat in systole, terwijl de boezems sterk gedilateerd zijn. Bij mechanische prikkeling mag nog een zwakke contractie van de voorkamers volgen en een gelocaliseerde — niet een geheele — contractie van den ventrikel.

Wanneer bij het blootleggen van het hart blijkt, dat nog resten van de ingespoten vloeistof in de lymphzak aanwezig zijn, wordt die proef uitgeschakeld.

Soms vertoont één kikvorsch uit een serie een abnorme gevoeligheid voor digitalis. De bij dat dier gevonden waarde wordt dan niet meegerekend.

Bij het voorloopige onderzoek van de onbekende stof laat men de hoeveelheden, die bij de verschillende dieren worden ingespoten sterk verschillen. Heeft men de doodelijke dosis ongeveer bepaald, dan wordt een tweede serie kikvorschen — en zoo noodig een derde en een vierde — ingespoten om de kleinste doodelijke dosis nauwkeurig vast te leggen.

Het voordeel van de 1 uur-methode is: groote eenvoudigheid bij voldoende nauwkeurigheid, ook indien niet zoo zorgvuldig alle voorschriften omtrent temperatuur enz. worden in acht genomen, die bij de methode Focke noodig zijn. Dit laatste geldt nog meer voor de 24 uur- dan voor de 1 uur-methode.

Als nadeel van de methode kan men opgeven, dat vrij veel kikvorschen noodig zijn, en dat het resultaat niet snel — bij de 24 uur-methode zelf eerst na eenige dagen — bekend is.

In herinnering moet worden gebracht, dat de hier beschreven methoden evenmin als de methode Focke bruikbaar zijn voor het onderzoek van die handelspraeparaten, waaraan stoffen zijn toegevoegd, die op de resorptie van de digitalis invloed uitoefenen of zelf een werking op het hart hebben. Digaleen b.v. kan wegens het gehalte aan glycerine niet met deze methode worden geijkt.

Niet geldt deze beperking (zooals men allicht uit het voorschrift der Am. Ph. zou besluiten) voor het *infuus* van digitalis, dit kan zeer goed met de kikvorschmethode worden geijkt. Waarom de Am. Ph. alleen de tinctuur en het fluidextract wil laten ijken is mij niet bekend. Wellicht is de reden, dat het infuus in Amerika weinig wordt gebruikt.

„Zeitlose" methode. Boven is reeds uiteengezet (zie blz. 32 en 33) dat de 1 uur-methode en de 24 uur-methode niet in alle gevallen dezelfde uitkomst zullen geven en dat dit vooral afhankelijk is van de snelheid waarmede de ingespoten digitalis wordt geresorboerd en ontleed. Straub, die over een groote ervaring omtrent physiologische waardebepalingen met de kikvorschmethode beschikt, houdt in het geheel geen rekening meer met den tijd en neemt alleen als toets voor de digitaliswerking het feit of de kikvorsch sterft of niet, onafhankelijk hoe lang dit duurt. De invloed van de resorptiesnelheid valt hierdoor weg en de techniek dezer werkwijze wordt daardoor buitengemeen eenvoudig. Intusschen het bezwaar dat Gottlieb(1) opperde, dat n.l.

(1) l. c.

in de buurt van de grenswaarden het voor kan komen, dat het kikvorschhart na 1 uur stilstaat, maar na 24 uur weer klopt, geldt evenzeer voor Straub's „zeitlose" methode. Wel geeft STRAUB aan, dat dit bezwaar niet geldt, indien men de kikvorschen onder water bewaart, zoodat bij ingetreden ademstilstand de huidademhaling niet ervoor kan zorgen, dat het dier zich kan herstellen, maar daarmede zou een nieuwe fout worden ingevoerd (vergel. blz. 22), doordat n.l. de digitaliswerking op het ademhalingscentrum in aanmerking komt, wat men juist wil voorkomen.

Of dus de „zeitlose" methode van voordeel is boven de 1 uur-methode, zal in elk bepaald geval moeten worden uitgemaakt, hiervoor zijn geen vaste regels te geven. Zeker is, dat in de meeste gevallen met beide werkwijzen behoorlijke uitkomsten zijn te verkrijgen.

STRAUB bezigt dus de volgende werkwijze [1]), die in hoofdzaak overeenkomt met die van HOUGHTON [2]).

Mannelijke temporariën worden na afdrukken van de urine tot op 1 Gram nauwkeurig gewogen en daarna gedurende de ijking elk op een porceleinen schaal onder een glazen stolp gezet. Het vergift wordt in den huiklymphzak ingespoten, nooit meer dan 0.5 c.M³. Nagegaan wordt of de dieren de ingespoten hoeveelheid vergift al dan niet overleven, onafhankelijk van den tijd. Er wordt alleen tusschen October en Mei geijkt. De fout der methode bedraagt 5—10 %.

Deze methode gebruikte STRAUB zoowel bij het quantitatieve onderzoek van de werkzame bestanddeelen van digitalisbladen en digitaliszaad als bij die van oleanderbladen. [3]) STRAUB's leerling E. MEYER onderzocht met deze methode ook een aantal handelspraeparaten [4]).

Methode van HATCHER.

HATCHER en BRODY [5]) deelden in 1910 de uitkomsten mede, die zij met een, reeds jaren door hen benutte methode hadden verkregen.

Het principe van deze methode is niet nieuw — er wordt bepaald de kleinste doodelijke dosis voor de kat — maar nieuw is de wijze, waarop zij het principe in de praktijk hebben gebracht.

HATCHER en BRODY bepalen de minimum dosis van ouabaine die bij de kat hartstilstand teweegbrengt en zij vinden dat die dosis juist 0,1 mgr. van het kristallijne ouabaine per K.G. kat bedraagt. Deze dosis noemen zij de „cat-unit". Het vergift wordt den dieren in de vena femoralis ingespoten, eerst snel met een spuit en daarna — zoodra zich vergiftigingsverschijnselen vertoonen — langzaam. Op deze wijze kan scherp het oogenblik worden bepaald, waarop het hart stilstaat. HATCHER en BRODY deelen niet mede, of de katten worden genarcotiseerd, ook niet

---

1) W. STRAUB. Die Mengen der wirksamen Bestandteile in Digitalissamen und Digitalisblatt. Arch. f. exp. Path. & Pharmac. Bl. 80, pag. 53, 1916.

2) E. HOUGHTON. Journ. Americ. Med. Assoc. 1898.

3) W. STRAUB. Die Mengen der Digitalisartig wirkenden Substanzen im Oleanderblatt und die Art ihres natürlichen Vorkommen (Tannoidfrage). Arch. f. exp. Path & Pharmac. Bd. 82, pag. 327, 1918.

4) E. MEYER. Die Aktivglucoside von Digitalisblättern verschiedener Abstammung und einiger Galenika des Handels in quantitativer Messung. Arch. f. exp. Path. & Pharmac. Bd. 81, pag. 261, 1917.

5) R. HATCHER and J. BRODY. The biological standardization of drugs. Americ. Journ. of pharmacy. vol 82 p. 360 1910.

of de vagi worden doorsneden, vermoedelijk geschiedt dit laatste dus niet. Wel wordt uitdrukkelijk vermeld, dat geen kunstmatige ademhaling wordt toegepast ; dit is dus in tegenstelling met de opvattingen van EDMUNDS en HALE (vergel. blz. 22). Volgens de mededeeling van HATCHER en BRODY is de methode zeer gevoelig en zij is dat niet alleen voor ouabaine maar ook voor andere digitalisachtige stoffen, amorphe strophantine, digitalis (tinctuur en infuus), digitoxine, digaleen, digipuratum enz. HATCHER en BRODY meenen, dat met hun methode allerlei digitalisachtige stoffen in „cat-units" kunnen worden uitgedrukt en dat deze eenheden onderling vergelijkbaar zouden zijn. Boven is reeds herhaaldelijk uiteengezet, dat dit standpunt niet kan worden gedeeld, trouwens HATCHER en BRODY merken zelf ook op, dat bij toediening per os, de resorptie in het maagdarmkanaal bij de verschillende digitalispraeparaten zeer verschillend is.

Tot dusverre verschilt dus HATCHER's methode niet veel van de werkwijze, die reeds door JACQUET en anderen was gebezigd. Nieuw echter is het volgende. HATCHER en BRODY overwegen, dat bij die vergiften die onmiddellijk nadat zij in de bloedbaan zijn gebracht hun volle werking op het hart uitoefenen, de methode nauwkeurig is, maar wanneer, zooals dat bij sommige digitalisglucosiden het geval is, het eenigen tijd duurt, voordat zij na de injectie hun volle werking doen gelden, dan moest de methode noodzakelijk te hooge waarden geven, omdat men nog doorgaat met toedienen van het vergift, nadat de letale dosis feitelijk al overschreden is. Aan dit bezwaar komen zij nu op vernuftige wijze tegemoet. Zij spuiten eerst een hoeveelheid digitalis in, die 1/2 à 3/4 van de te verwachten doodelijke dosis bedraagt, dan wordt 20 minuten gewacht — na welken tijd zij rekenen, dat de digitalis haar volle werking heeft ontvouwd — vervolgens wordt met een ouabaineoplossing verder ingespoten, totdat het hart stil staat. Door berekeningen kan worden gevonden met hoeveel ouabaine de gebruikte digitalishoeveelheden overeenstemmen en dan de sterkte van het onderzochte digitalismonster in „cat-units" worden uitgedrukt.

Er valt niet aan te twijfelen, dat op deze wijze een fout wordt ontgaan, maar er valt evenmin aan te twijfelen, dat een nieuwe fout wordt ingevoerd. Wil deze werkwijze n.l. goede uitkomsten geven, dan moet worden verondersteld, dat de concentratie-werkingscurve van ouabaine en het digitalispraeparaat een geheel gelijk verloop hebben en hoewel de C—W. curve voor verschillende digitalisachtige stoffen nog niet is vastgelegd, is er veel reden om te vermoeden (onderzoekingen van STRAUB [1]), SLUYTERMAN [2]),

(1) W. STRAUB. Biochen Zeitsch Bd. 28 pag. 400, 1910.

(2) A. SLUYTERMAN. Zur allgemeinen Pharmacologie digitalisartig wirkender Substanzen. Acad. proefschrift, Utrecht 1911.

GOTTLIEB[1]) o.a.) dat het verloop der curve voor de verschillende stoffen niet identiek is. Welke fout grooter is, degene die ontgaan wordt of degene, die nieuw wordt ingevoerd, is moeilijk te zeggen. Dit zou door een geheele reeks van onderzoekingen voor elk digitalispraeparaat moeten worden nagegaan. Dit zeer nuttige onderzoek is — voor zoover ik weet — nog niet geschied.

HATCHER en BRODY staan, naar het schijnt, op het standpunt, dat een aantal digitalisachtige stoffen op de beide vermelde wijzen kunnen worden onderzocht, maar bij digitoxine-bepalingen bijv. moet bij voorkeur eerst digitoxine en daarna ouabaine worden gegeven.

Zooals vermeld, beschouwen HATCHER en BRODY hun methode als zeer nauwkeurig, wat ook uit hun cijfers blijkt. Een groot voordeel is, dat men geen standaardpraeparaten noodig heeft, omdat de gevoeligheid van katten voor digitalis en strophantine zeer weinig wisselt. In een groote reeks van proeven werden slechts twee maal abnorm hooge waarden gevonden. Deze beide katten verkeerden in de lactatieperiode. Zeer dikke katten geven ook onjuiste waarden en bovendien deelen HATCHER en BRODY nog mede, dat bij latere onderzoeken bleek, dat sommige katten abnorm hooge waarden gaven zonder dat daarvoor een bekende reden bestond. Zooals onder blijken zal, kan men ook in ons land voorzoover onze ervaring gaat vrij wel op constante gevoeligheid der katten rekenen.

De hier beschreven methode is ook daarom van belang, omdat een aantal vraagstukken betreffende de pharmacologie van digitalis erdoor tot oplossing kunnen worden gebracht. De vraag of een bepaald praeparaat een cumulatieve werking heeft, kan nauwkeurig met deze methode worden onderzocht, eveneens de vraag in welke mate resorptie van digitalisachtige stoffen uit het darmkanaal (van katten) plaats heeft. Vooral van belang met het oog op latere besprekingen (vergel. blz. 46) is, dat HATCHER & BRODY aantoonden, dat zoowel in de 10 % tinctuur van digitalis als in een 1 % infuus alle werkzame stoffen overgaan, die bij toediening van digitalisbladen per os (aan de kat) vanuit den darm worden geresorbeerd.[2]) Hieruit zou volgen, dat wanneer men een infuus van digitalisbladen met physiologische methode ijkt, dat dan de ijking ook waarde heeft als de bladen niet als infuus, maar als poeder van digitalis worden voorgeschreven.

In het pharmacologisch instituut te Utrecht is de methode gedurende de laatste 2 jaren voortdurend toegepast voor het standaardiseeren van verschillende digitalis- en strophantinepraeparaten. Wij kregen met deze werkwijze goede uitkomsten, evenals o.a. KURODA[3]), die zijn ervaringen daaromtrent in 1916 meedeelde.

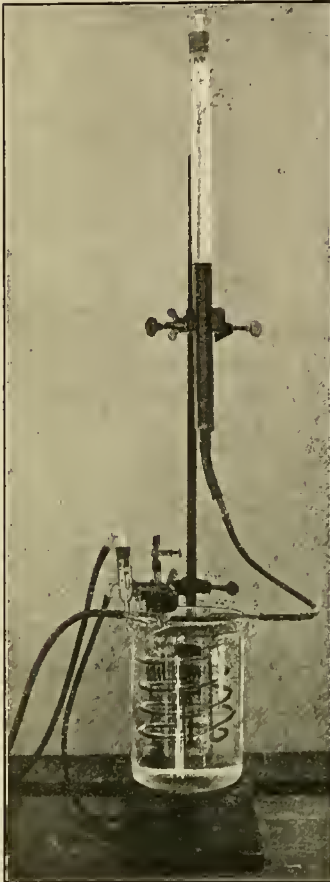
1) l. c.

2) ....,,we have also found, that the tincture of digitalis represents the activity of the leaf fully, the marc left after the preparation of the tincture of a specimen of the German digitalis in one case, and from the English in another, being inert" (d.w.z. onwerkzaam wanneer het per os aan een kat wordt toegediend) ....,,The same may be said of the infusion at least a one percent". HATCHER and BRODY, The American Journal of Pharmacy Vol. 82 pag. 371, 1910.

3) M. KURODA. Ueber Cymarin. Zeitsch. f. d. ges. exp. Med. Bd. IV pag. 55, 1916.

HATCHER's werkwijze was mij oorspronkelijk slechts uit de mededeeling van KURODA bekend. Daar het mij niet gelukte het deel der Americ. journ. of pharmacy in handen te krijgen [1]), waarin HATCHER's oorspronkelijke mededeeling stond, was het niet mogelijk de aanwijzingen van HATCHER en BRODY nauwkeurig te volgen. Na eenig zoeken bleek de volgende werkwijze zeer bruikbaar.

Fig. 9.



Toestel voor de methode van HATCHER.

Een kat van 2000—2600 gram wordt gewogen, daarna met aether genarcotiseerd en op een dierplank opgespannen. Vervolgens wordt tracheotomie verricht, in de luchtpijp een canule ingebracht en kunstmatige ademhaling ingesteld, en tenslotte in de vena femoralis een canule ingevoerd om de oplossing van het te onderzoeken digitalispraeparaat te doen instroomen.

In de eerste reeks van onderzoekingen werd bij de kat 1 gram urethaan pro K.G. onderhuids ingespoten en de aethertoevoer daarna afgesteld. Later, toen urethaan niet meer te krijgen was, werd gedurende het geheele onderzoek een lichte aethernarcose onderhouden. Dit bracht in de uitkomsten geen verschil; zoo mogelijk zou ik echter gaarne tot de urethaantoediening terug willen keeren. De kunstmatige ademhaling blijft (in tegenstelling met HATCHER, in overeenstemming met EDMUNDS en HALE) gedurende de geheele proef doorgaan.

Uit een buret laat men nu een ½ % infuus van de te onderzoeken digitalisbladen in de vene inloopen, en regelt de snelheid zoo, dat per minuut 1 cM³. vloeistof inloopt. De buret is van boven met een kurk gesloten, waardoor een dun uitgetrokken glazen buis, die tot onder aan den bodem van de buret reikt, loopt. Men heeft dus volgens het principe van de flesch van Mariotte steeds een constanten druk en aan het opstijgen der luchtbellen in de vloeistof kan men gemakkelijk beoordeelen, of de vloeistof regelmatig inloopt. Het infuus van digitalis is natuurlijk door toevoeging van 0.9 % NaCl bloed-isotonisch gemaakt. Tusschen buret en vene-canule is een spiraalbuis ingeschakeld, die zich in een bekerglas met water bevindt, dat door middel van een thermoregulator op ongeveer 40° gehouden wordt. (Het toestel is in Fig. 9 afgebeeld.)

Wanneer 40 à 50 cM³. van de vloeistof is ingeloopen, krijgt het dier als regel krampen,

1) Later was Prof. v. ITALLIE zoo welwillend mij zijn exemplaar van dit tijdschrift, waarin HATCHER's mededeeling staat, ter inzage te geven, waarvoor ik hem mijn welgemeenden dank betuig.

de bloedsdruk daalt snel en na eenige minuten staat het hart stil. Door openen van de borstkas overtuigt men zich dan nog, of dit inderdaad het geval is, waarbij als criterium het stilstaan der ventrikels wordt genomen. Staan de ventrikels stil, dan wordt afgelezen, hoeveel c.M³. van de vloeistof is ingeloopen en dit per K.G. kat berekend. In een onderzoek, dat DEN BESTEN en DE LIND VAN WIJNGAARDEN [1]) in dit instituut instelden, bleek nu, dat met strophantine-oplossingen, met oplossingen van tinct. digitalis en met ½ % infuus van digitalis zeer goede resultaten werden verkregen. Tusschen 2 reeksen van 3 of meer proeven, telkens met hetzelfde vergift verricht, werd een verschil van resp. 20 %, minder dan 10 % en 5 % gevonden. De uitkomst van één dier onderzoekingen zij hieronder meegedeeld.

Hierin werd onderzocht ½ % infuus van fol. digitalis titrata van FOCKE met een valor 4.

In de eerste reeks van 3 proeven bleek per K.G. dier noodig te zijn 18.3 c.M³. van het ½ % infuus. In de tweede reeks, die door een ander onderzoeker werd verricht, werd gevonden 19.2 c.M³. per K.G. dier. Hier dus een verschil van slechts 5 %.

Na het onderzoek van DEN BESTEN en C. DE LIND VAN WIJNGAARDEN zijn nog vele ijkingen van digitalis, strophantine en ook van digaleen door anderen in het instituut verricht en steeds waren de uitkomsten bevredigend.

Als regel worden voor elke bepaling 3 katten gebruikt. Verschillen de daarbij gevonden waarden sterk, dan wordt een vierde kat erbij genomen, dit is slechts zelden noodig. Een enkele maal gaf een kat een abnorm hooge of abnorm lage waarde, één of tweemaal kwam dit bij een zwangere kat voor, een andere maal was geen oorzaak aan te geven. (Vergel. blz. 39). Er wordt op gelet, dat zoo eenigszins mogelijk, het lichaamsgewicht van de katten, van de boven gegeven grenzen van 2000—2600 gram, niet belangrijk afwijkt, omdat gebleken is, dat daardoor de uitkomsten minder zuiver worden. Wij doorsnijden bij onze ijkingen de n.n. vagi der katten niet. Kort geleden deelden MACHT & COLSON [2]) mede, dat meer regelmatige uitkomsten verkregen worden, indien de vagi *wel* worden doorsneden. Wij blijven echter voorloopig bij de tot nu toe gevolgde werkwijze, omdat anders de „valor" der praeparaten misschien een andere zou worden. Wordt de HATCHER-methode later in de Pharmacopee opgenomen, dan zal men moeten beslissen of men de vagi steeds zal doorsnijden of niet.

HATCHER & BRODY's gecombineerde methode (eerst digitalis, later strophantine) heb ik niet gebruikt; in den beginne niet, omdat ik die werkwijze nog niet kende, later niet, omdat ik ook zonder dat goede uitkomsten kreeg. Ik zou er bezwaar tegen maken klakkeloos naar de digitalis-strophantinemethode over te gaan. Een uitvoerig onderzoek zou — zooals boven is uiteengezet — daaraan moeten vooraf gaan.

De verschillen tusschen de oorspronkelijke methode van HATCHER en de door ons gevolgde zijn dan:

1e. Wij passen kunstmatige ademhaling toe, HATCHER doet dit niet.

2e. Wij narcotiseeren de dieren met urethaan of aether. Welk narcoticum HATCHER toepast is mij niet bekend.

3e. HATCHER gebruikt de gecombineerde methode, wij niet.

Valor van verschillende digitalispraeparaten.

Om nu de bij de verschillende ijkingen gevonden waarden in getallen te kunnen uitdrukken, werd een infuus gemaakt van digi-

---

1) G. DEN BESTEN en C. DE LIND VAN WIJNGAARDEN. De physiologische waardebepaling van digitalis-praeparaten op een warmbloedig dier. Ned. Tijdschr. v. geneeskunde, 1917 2e helft pag. 479.

2) MACHT and COLSON. The toxicity of digitalis for normal and vagotomized cats. Journ. of pharm. and exp. therap. vol. IX p. 343. Proceedings. Americ. Soc. for pharm. and exp. ther.

talisbladen, die door FOCKE waren gestandaardiseerd en die een valor 4 hadden.

Van dat infuus bleek (zie boven) in een eerste reeks van 3 proeven per K.G. kat noodig te zijn 18.3 c.M^3. In een tweede reeks, die door een ander onderzoeker werd verricht, werd gevonden 19.2 c.M^3. per K.G. kat. Tusschen de uitkomsten van beide reeksen bestond dus slechts een verschil van 5%, zoodat mocht worden aangenomen, dat het gemiddelde van deze beide reeksen, dus 18.75 c.M^3. per K.G. kat, de juiste waarde is voor een infuus met een valor 4. Het werd daarom wenschelijk geacht, in het vervolg bij het ijken van digitalisbladen volgens de methode van HATCHER aan een monster *dan* den valor 4 toe te kennen, indien van het 1/2% infuus per K.G. dier 18.75 c.M^3. noodig was om de kat te dooden. Er was reden om deze berekeningswijze te aanvaarden, omdat in Holland gestandaardiseerde digitalisbladen van CAESAR & LORETZ in gebruik waren, geijkt door FOCKE en met een valor 4, terwijl prof. RUITINGA bij in Holland gekweekte bladen met de methode FOCKE een valor 3 vond. Om dus, wat beteekenis van valor betreft, in overeenstemming met FOCKE te blijven en ook tevens te bevorderen, dat de in Holland geijkte bladen zooveel mogelijk éénzelfden valor zouden hebben, besloot ik om aan bladen, waarvan van het 1/2% infuus 18.75 c.M^3. noodig was per K.G. dier om een kat te dooden, een valor 4 toe te kennen; dat wordt dus 25 c.M^3. per K.G. kat voor een valor 3. Wil men dus den valor van digitalisbladen leeren kennen, dan gaat men als volgt te werk:

Bij een reeks van 3 katten, die ca. 2000—2600 gram wegen, wordt de hoeveelheid van het 1/2 % infuus bepaald, die noodig is, om het hart tot stilstand te brengen. Het gemiddelde aantal c.M^3. per K.G., dat hierbij gevonden wordt, deelt men op 75 en het quotiënt geeft den valor aan.

Behalve voor het digitalisinfuus is de methode volgens mijn ervaring ook bruikbaar voor de tinctuur van digitalis, voor de tinctuur van strophantus en voor oplossingen van digaleen. Van de verschillende vloeistoffen moet men dan zoodanige verdunningen bereiden, dat de hartstilstand in 40—60 minuten optreedt. Laat men veel langere of veel kortere tijden toe, dan wordt de methode minder nauwkeurig.

Bij het vaststellen van den valor voor tinctura strophanti deed zich een moeilijkheid voor. Het was gebleken dat men goede ijkingen verrichten kan, indien men 1/10 % oplossing der 10 % tinctuur van de Ned. pharmacopee benut. Van 4 tincturen van verschillende herkomst bleek ongeveer 25 c.M^3. per KG. kat noodig te zijn, om hartstilstand te verkrijgen. Nu was de vraag, welke valor aan deze tinctuur moest worden toegekend. Mogelijk ware geweest, om, aangenomen dat de door mij onderzochte tincturen een normale sterkte hadden, ook deze tinctuur in overeenstemming met de digitalisbladen een valor 3 toe te kennen. Dit zou echter misleidend kunnen zijn, want bij toediening van het vergift aan den mensch zijn de verhoudingen in de doseering heel anders, dan bij het zoeken van de doodelijke dosis door intraveneuse inspuiting bij een dier. Derhalve werd dus besloten, een ander getal te nemen. Het

bleek nu, dat indien den $^{1}/_{10}$ % oplossing der strophantinotincturen werd vergeleken met ½ % infuus digitalis (een overigens volkomen willekeurig iets), dat dan de tinctuur een valor 15 zou hebben. Besloten werd nu, om aan een tinctuur van deze sterkte een valor 15 toe te kennen. Om zekerheid te hebben, dat ook steeds een dergelijke tinctuur zou kunnen worden geleverd, werd aan de betrokken groothandelaren in overweging gegeven, de tinctuur niet met een valor 15 in den handel te brengen, maar ze te verdunnen, zoodat de valor 12 werd verkregen. De valor 12 van strophantustinctuur heeft dus geen essentieele beteekenis, dient evenals de getallen, die voor den valor van andere geijkte galenische praeparaten worden opgegoven, alleen om de sterkte van verschillende monsters van hetzelfde praeparaat in getallen te kunnen uitdrukken en ze onderling te kunnen vergelijken. De getallen geven geen aanwijzingen aan den clinicus voor therapeutisch gebruik, ze dienen alleen om aan te geven, dat een praeparaat steeds een constante hoeveelheid werkzame stoffen bevat.

Dit zijn de redenen, die mij ertoe geleid hebben, om den valor van digitalisbladen en van de strophantustinctuur in getallen uit te drukken en bij de ijking van het secale heb ik dit eveneens gedaan. Toch geloof ik, dat het beter zou zijn om, indien men in de toekomst ertoe overgaat geijkte praeparaten in de pharmacopee op te nemen, de getallen weg te laten. Men zou voor elk galenisch praeparaat kunnen nagaan, wat in Holland de gemiddelde sterkte is. Een praeparaat van die sterkte zou men dan als standaard kunnen gebruiken en door het toevoegen van een letter V. of S. of van het woord „geijkt" zou men het als zoodanig kunnen karakteriseeren. De pharmacoloog zou dan door het verrichten van physiologische waardebepalingen ervoor kunnen zorgen, dat het geijkte praeparaat steeds een constante werkzaamheid zou hebben. Bij het kiezen der daarbij te benutten methoden zou hem een zekere mate van vrijheid moeten worden gelaten. Wanneer na eenige jaren bleek, dat regelmatig in ons land digitalisbladen te verkrijgen waren met een sterkte, aanzienlijk hooger dan de standaard, zou in overleg met bevoegde autoriteiten met ingang van een bepaalden datum de standaard kunnen worden gewijzigd. Dit zou dan aan alle artsen en apothekers moeten worden bekend gemaakt.

***

Voordeelen van de HATCHER's methode zijn dus de volgende:

1e. Groote nauwkeurigheid. Wanneer men, zooals dat in het pharmacologisch laboratorium te Utrecht thans geschiedt, van elk te standaardiseeren monster drie bepalingen doet en het gemiddelde van die waarden neemt, dan bedraagt de proeffout gemiddeld zeker niet meer dan 5%, in een aantal gevallen was zij zelfs lager (tot 3%). Geeft één kat uit de reeks abnorm hooge of abnorm lage waarden, dan wordt een 4e bepaling gedaan en de abnorme waarde uitgeschakeld.

2e. De methode is eenvoudig en kan in alle jaargetijden worden benut, de gevoeligheid van de katten schijnt niet te wisselen.

Men behoeft dus niet telkens contrôlebepalingen te doen, zooals bij de kikvorschmethode noodig is. Alleen zou ik willen aanraden om in de maanden November en December af en toe een contrôlebepaling in te schakelen, omdat dan geregeld elk jaar onder de laboratoriumdieren een infectieziekte uitbreekt, zoodat de mogelijkheid bestaat, dat een dier, dat er gezond uitziet en waarbij macroscopisch na den dood in hart en longen niets bizonders gevonden wordt, toch op het oogenblik, dat de proef gedaan wordt, minder resistent is.

3e. Met de HATCHER-methode kan men snel, wanneer katten in voorraad zijn binnen 6 uur, de uitkomst van een ijking weten.

4e. Bij de HATCHER-methode wordt het vergift direct in de bloedbaan gebracht, de factor „resorptiesnelheid" valt dus uit. Hierdoor is het in vele gevallen mogelijk, om op bizondere wijze bereide praeparaten met de HATCHER-methode te standaardiseeren. Het bekende patentmiddel digaleen bijv. kan wegens zijn hooge glycerinegehalte niet met de kikvorschmethode, wél echter met de HATCHER-methode worden geijkt.

Nadeelen van de methode zijn moeilijk aan te geven, met al de andere in gebruik zijnde methoden heeft zij het nadeel gemeen, dat als criterium voor de werkzaamheid der praeparaten niet het therapeutische maar het toxische stadium der digitalis wordt genomen ; maar overigens moet zij als de beste methode worden beschouwd.

Als bezwaar zou men kunnen doen gelden, dat men over een toestel voor kunstmatige ademhaling moet beschikken en dat men plaats moet hebben om een aantal katten in voorraad te houden, in het kort dat de methode het meest tot haar recht komt in een welingericht pharmacologisch labaratorium. Het is overigens de vraag of dit wel een nadeel is, want zooals boven reeds is gesproken, zullen physiologische waardebepalingen voorloopig toch slechts met vrucht kunnen worden benut door hen die gewend zijn physiologische onderzoekingen te doen en die dus allicht over de noodige toestellen kunnen beschikken.

***

Betrouwbaarheid der digitalismethoden in het algemeen.

Tot slot moet nog worden overwogen, wat met de verschillende methoden kan worden bereikt.

Op den voorgrond moet hierbij worden gesteld, dat de physiologische methoden slechts kunnen geven een waarborg dat het onderzochte praeparaat even werkzaam is als een standaardpraeparaat en dat omtrent de therapeutische waarde der verschillende geneesmiddelen de physiologische methoden wel aanwijzingen, maar geen absolute gegevens kunnnen verschaffen.

De vraag is nu of de physiologische waardebepalingen aan deze beperkte opdracht kunnen voldoen.

Voor een aantal praeparaten, n.l. voor die welke in denzelfden

vorm waarin ze in de therapie worden gebruikt ook op het dier of dierlijk orgaan kunnen worden onderzocht, is deze vraag gemakkelijk te beantwoorden. Men kan inderdaad met de physiologische methoden de garantie verschaffen, dat een tinctuur van strophantus of van digitalis of een patentmiddel als digaleen een bepaalde sterkte heeft en men kan ervoor instaan — wanneer men voortdurend blijft controleeren — dat het middel ook in de toekomst diezelfde werking en dus dezelfde therapeutische waarde zal behouden. Voor het belangrijkste geneesmiddel uit deze groep, voor de digitalisbladen als zoodanig, doen zich moeilijkheden voor. Men kan de digitalisbladen alleen ijken indien men er eerst een infuus of een tinctuur van maakt, maar in de therapie worden ze herhaaldelijk als pulvis foliorum digitalis voorgeschreven. Wanneer men nu zeker was, dat in de tinctuur of in het infuus *alle* werkzame stoffen uit de bladen overgingen, was de moeiklijheid opgelost, maar het bezwaar is dat men zeker weet, dat dit *niet* het geval is. En wanneer men nu slechts wist op welke wijze men dan *wel* alle werkzame stoffen uit de bladen kon krijgen was men althans een stap verder, maar ook op dit punt bestaat nog geenzins overeenstemming tusschen verschillende onderzoekers.

Het nauwkeurigst is dit vraagstuk onderzocht door STRAUB en HEFFTER.

STRAUB [1]) heeft in een aantal onderzoekingen het gehalte aan werkzame bestanddeelen van digitalisbladen (en eveneens van digitaliszaad en oleanderbladen) nagegaan en bepaald op welke wijze men de verschillende bestanddeelen aan het blad kan onttrekken. Tot goed begrip van STRAUB's resultaten zij vermeld, dat hij in de digitalisbladen drie werkzame bestanddeelen onderscheidt, n.l. :

Gitaline van KRAFT, dat wel blijkens latere onderzoekingen een mengsel van verschillende stoffen is, maar dat toch als zelfstandige fractie bij deze onderzoekingen kan worden beschouwd. Het is goed oplosbaar in water en in chloroform.

Digitaleine van KILIANI en WINDAUS, goed oplosbaar in alcohol en water, niet oplosbaar in chloroform

Digitoxine, goed oplosbaar in alcohol en chloroform, niet oplosbaar in water.

Op grond van deze criteria heeft STRAUB nu bepaald hoeveel van de drie stoffen in een koud waterextract en hoeveel er in een infuus overgaat. De hoeveelheden werden hierbij bepaald met de steeds door STRAUB benutte physiologische methode n.l. de „zeitlose" kikvorschmethode.

Volgens STRAUB gaat in het koudwaterextract van digitalisbladen over alle gitaline, alle digitaleine en geen digitoxine. In het infuus (behandeling van 4 Gr. bladen met 100 deelen kokend water) gaat minder werkzame stof over dan in het koudwaterextract. Dit komt doordat een deel van het gitaline (ca. 30 %) door het warme water wordt ontleed. Maar het hierdoor veroorzaakte deficit wordt eenigszins hersteld, doordat in het warme water een deel van de digitoxine overgaat.

In het koudwaterextract en uit het infuus kan men nu het gitaline en het digitaleine gemakkelijk afzonderlijk afscheiden doordat het gitaline wel en het digitaleine niet in chloroform oplosbaar is. (STRAUB maakt er intusschen op attent, dat men onder bepaalde omstandigheden de geheele digitaleinefractie toch in de chloroform over kan krijgen).

Uit de massa, die na extractie der bladen met koud of warm water overblijft en

---

1) l. c.

die nog alleen digitoxine als werkzaam bestanddeel bevat, kan men alle digitoxine verwijderen door extractie met 50 % alcohol.

Volgens STRAUB kan men dus door extractie met koud of warm water met daaropvolgende extractie met 50 % alcohol alle werkzame bestanddeelen uit de digitalisbladen verkrijgen.

HEFFTER is het hiermede niet eens, hij vindt n.l. [1]) dat door extractie der digitalisbladen in het Soxhlet apparaat met absoluten alcohol gedurende eenige uren veel meer werkzame bestanddeelen worden verkregen dan met de methode van STRAUB.

Uit een bepaalde digitalissoort A krijgt hij b.v. door extractie met absoluten alcohol in het Soxhlet apparaat 2000 eenheden. (Froscheinheiten bepaald met de 24 uur kikvorsch-methode dus bijna dezelfde methode die STRAUB gebruikt).

Door extractie met 69 % alcohol krijgt HEFFTER uit dezelfde bladen slechts 1500 eenheden.

Gaat hij te werk als STRAUB en extraheert hij eerst met koud water, daarna met 50 % alcohol, dan vindt hij slechts 1190 eenheden, dus een tekort van 810 eenheden.

Extraheert HEFFTER eerst met benzol en daarna met absoluten alcohol in het Soxhletapparaat dan vindt hij in de beide fracties samen *minder* werkzame bestanddeelen, dan bij extractie met alcohol alleen n.l. met alcohol alleen 2000 eenheden; met benzol, daarna met alcohol 1415.

En ook wanneer hij eerst volgens STRAUB de bladen met water extraheert en daarna volgens zijn methode met absoluten alcohol komt hij nog niet op 2000 eenheden. Hier zijn dus nog moeilijkheden, waarvoor ook HEFFTER geen verklaring weet. Hij staat dus op het standpunt dat alleen door extractie met absoluten alcohol in het Soxhletapparaat de geheele voorraad aan werkzame bestanddeelen aan de bladen kan worden onttrokken.

HEFFTER heeft ook nog de extractie-methode gecontroleerd, die de Amerikaansche Pharmacopee voorschrijft en die ook door PICK en WASICKI [2]) bij hun onderzoek is benut. Hierbij worden de bladen gedurende geruimen tijd gemacereerd met 68—69 % alcohol. Ook op deze wijze bleek een tekort te bestaan en werden n.l. slechts 1500 eenheden gevonden waar de extractie met absoluten alcohol 2000 gaf.

Uit dit korte overzicht — het zou niet moeilijk zijn het uit te breiden — blijkt dus reeds dat over de vraag, hoe men alle werkzame bestanddeelen uit de digitalisbladen krijgen kan, nog geen eenstemmigheid is verkregen.

Daarbij komt nog, dat men voor practisch gebruik niet moet weten, hoeveel werkzame stof met de beste chemische methode uit de bladen kan worden verkregen, maar hoeveel de darmwand eruit kan resorbeeren, en ingewikkelder wordt deze zaak nog doordat in de digitalisbladen stoffen voorkomen (de saponinen en de z.g. „tannoiden" van GOTTLIEB) die zelfs geen specifieke digitaliswerking hebben, maar de oplosbaarheid van de werkzame digitalisglucosiden vergrooten. Ook de hoeveelheid van deze stoffen is dus belangrijk voor de vraag, hoeveel werkzame bestanddeelen uit een bepaalde hoeveelheid digitalis door den menschelijken darm kunnen worden geresorbeerd.

Uitdrukkelijk moet worden opgemerkt, dat de geheele moeilijkgeid zou zijn opgelost, indien HATCHER en BRODY gelijk hebben (vergel. bldz. 39) en inderdaad zoowel in de digitalistinctuur

1) A. HEFFTER. Zur Wertbestimmung der Digitalisdroge. Berl. Klin. Wochenschr. 1917, no. 28.

2) E. PICK und R. WASICKI. Wiener Med. Woch., 1917, no. 6.

als in het 1 % infuus alle werkzame digitalisstoffen overgaan, die door den darm (van een kat) kunnen worden geresorbeerd. Er behoeft dan alleen nog maar te worden aangenomen, dat de menschelijke darm zich in dit opzicht als de kattendarm gedraagt, wat niet zoo heel onwaarschijnlijk is. Deze opvatting van HATCHER en BRODY, die nog niet algemeen is aangenomen, zou dus moeten worden gecontroleerd. Tegen de opvatting pleit, dat zoovele clinici aan pulv. fol. digit. de voorkeur geven boven de tinctuur of het infuus van digitalis.

Dit is dus weer een van de punten, die dringend om nauwkeurige bewerking vragen, vooral ook omdat deze kwestie moet worden opgelost, voor men een bindend voorschrift voor de ijking van digitalisbladen in de pharmacopee kan opnemen.

Persoonlijk meen ik, dat men wel doet met voorloopig de digitalis te ijken door de werkzaamheid van het $^1/_2$ % infuus der Ned. Pharmacopee te bepalen met de HATCHER methode of met de 1 uur- (24 uur-)kikvorschmethode. Dit geeft dan tenminste geheel juiste gegevens voor het geval dat de arts het infuus aan zijn patiënten voorschrijft en deze werkwijze verschaft gegevens, die de juistheid althans zeer nabij komen, voor het geval dat pulv. fol. digit. voorgeschreven wordt. Want zeer de vraag zal het zijn of de darmwand evenveel werkzame bestanddeelen uit de digitalisbladen kan resorbeeren als daaruit door extractie met absoluten alcohol in het Soxhletapparaat kunnen worden verkregen (vergel. HATCHER en BRODY).

De tinctuur van digitalis kan natuurlijk als zoodanig worden geijkt en wel — indien men de HATCHER-methode gebruikt — zonder dat eenige voorafgaande bewerking noodig is. Ditzelfde geldt voor de strophantustinctuur.

***

Men kan geenzsins beweren, dat het vraagstuk der physiologische waardebepaling van digitalisachtige stoffen reeds is opgelost, en zeer zeker is nog niet die graad van nauwkeurigheid bereikt die men zou wenschen. Maar wèl bereikt is — en dat is de hoofdzaak — dat thans digitalisbladen kunnen worden beschikbaar gesteld, die (berekend naar de werkzaamheid van het infuus) een constante hoeveelheid werkzame stof bevatten met een nauwkeurigheid van 3 à 5 %. Dit beteekent dat het infuus en de tinctuur van digitalis (en eveneens de strophantustinctuur) geneesmiddelen met een constante werkzaamheid zijn geworden ; hetzelfde geldt met eenige beperking voor de pulv. fol. digitalis. En dit is — wanneer nog eens in herinnering mag worden gebracht, dat zonder physiologische waardebepaling verschillen in werkzaamheid tot 400 % voor komen — een groot succes.

HOOFDSTUK II

SECALE CORNUTUM EN SOORTGELIJKE PRAEPARATEN.

Algemeene beschouwingen

De werkzame bestanddeelen van het secale cornutum zijn — althans grootendeels — bekend. BARGER and DALE [1]) en KRAFT [2]), vonden als hoofdbestanddeelen het ergotoxine, het paraoxyphenylaethylamine (tyramine) en het β-imidazolylaethylamine (histamine). Daarnaast komen nog minder belangrijke basen en harsachtige stoffen voor. Hoewel nu de hoofdbestanddeelen chemisch goed gedefinieerde stoffen zijn, bestaat nog geen voor de praktijk geschikte chemische methode om de werkzaamheid van een bepaald secalepraeparaat te bepalen. De Ned. pharmacopee ziet dan ook van elke contrôle van de sterkte der secalepraeparaten af. Dat een dergelijke contrôle toch wel zeer noodig zou zijn, bleek in een onderzoek, dat ik in 1916 verrichtte. [3])

Er werd toen uit 6 verschillende apotheken op hetzelfde recept *extr. sec. cornuti* betrokken en van deze 6 monsters werd met physiologische methode de werkzaamheid vergeleken. De uitkomst was, dat het sterkste praeparaat ongeveer 30 × meer physiologisch werkzame stof bleek te bevatten dan het zwakste praeparaat. Dit is dus een geval, waarin — bij volslagen gebrek aan een bruikbare chemische methode — de physiologische methode zeer goede diensten kan bewijzen.

Physiologische waardebepalingen van secale cornutum werden reeds in 1884 door KOBERT [4]), later door GRÜNFELD [5]), JACOBI [6])

---

1) BARGER, CARR & DALE. Biochem. Journal vol 2, pag. 240, 1907.
BARGER & DALE. Journal of physiol. vol 38, pag. LXXVII. 1909. en vol. 40, pag XXXVIII. 1910.

2) KRAFT. Arch. f. pharmacie Bd. 244, pag. 336 1906.

3) W. STORM v. LEEUWEN. Over het verschil in werkzaamheid van secale-praeparaten van verschillende herkomst. Ned. Tijdschr. v. geneesk. 1917. 1ste helft pag. 904.

4) R. KOBERT. Über die Bestandteile und Wirkungen des Mutterkorns. Arch. f. exp. Path. & Pharm. Bd. 18, pag. 316, 1884.

5) A. GRÜNFELD. Arbeiten des pharmakol. Instit. Dorpat. Bd. 8, pag. 108 en Bd. 7 pag. 295.

6) C. JACOBI. Das Sphacelotoxin der spez. wirksame Bestandteil des Mutterkorns. Arch. f. exp. Path. & Pharm. Bd. 39, pag. 85, 1897.

en JACQUET [1]) verricht. Zij gebruikten als toets voor de sterkte der praeparaten de bekende werking op den hanekam. Later werd door anderen de invloed op de vaten en op den bloedsdruk en de invloed op den uterus als criterium voor de werkzaamheid van het secale genomen. Men vindt een kort historisch overzicht over deze methoden met literatuuropgaven bij KEHRER [2]).

Een uitvoerig kritisch overzicht over de verschillende werkwijzen geven EDMUNDS en HALE [3]), die ook zelf een reeks onderzoekingen deden en daarbij gebruikten :

1e. de hanekammethode.
2e. de bloedsdrukmethode.
3e. de uterusmethode.

1e *De hanekammethode.* Deze berust op het volgende beginsel :

Reeds in 1824 heeft LORINSER [4]) aangetoond, dat na toedienen van secale bestanddeelen aan hanen bij kleine dosen een blauwe verkleuring van den kam optreedt, terwijl na groote hoeveelheden de kam necrotisch wordt.

Deze eigenaardige werking van het secale is na dien tijd herhaaldelijk benut bij de ijking van secalepraeparaten. Men heeft geruimen tijd gemeend, dat de hanekammethode zeer irrationeel was, vooral toen KRAFT [5]) meende te hebben aangetoond, dat de in secale voorkomende ergotinine en hydroërgotinine *wel* de necrotiseerende werking op den hanekam en den prikkelenden invloed op het centraal zenuwstelsel, maar *niet* de uteruswerking hadden.

Eenigszins in eere hersteld werd de hanekammethode door het onderzoek van BARGER en DALE [6]), die aantoonden, dat ergotoxine (het hydroërgotinine van KRAFT), behalve de werking op den hanekam, wel degelijk ook een werking op den uterus had.

BARGER en DALE hebben daarna hun studie over de chemie en pharmacologie der werkzame bestanddeelen van secale voortgezet; eenige hunner resultaten zijn boven reeds medegedeeld.

Het bleek dat de drie hoofdbestanddeelen, het ergotoxine, het histamine (β.i.) en tyramine (p.-oxyphenylaethylamine) niet dezelfde werking op verschillende organen uitoefenen.

BARGER & DALE vonden, dat de werking op den hanekam hoofdzakelijk aan ergotoxine toekomt, en dat de overige secalebestanddeelen in dit opzicht weinig werkzaam zijn. [7])

---

1) A. JACQUET. Über die pharmaco-dynamische Wirkung einiger Pflanzendyalisate Korrespondenzblatt f. Schweizer Aerzte 1897. pag. 326, 1898. pag. 745.

2) KEHRER. Der überlebende Uterus als Testobjekt für die Wertigkeit der Mutterkornpraeparate, Zeitschr. f. exp. Path & Pharmacol. Bd. 58, pag. 366, 1908.

3) CH. W. EDMUNDS & W. HALE. The physiological standardization of ergot. Bull. N°. 76. Hyg. Lab. U. S. Pub. Health & Marine hosp. serv. Wash. July 1911.

4) LORINSER. Versuche und Beobachtungen über die Wirkung des Mutterkorns auf den menschlichen und tierischen Körper. Berlin 1824 (gecit. n. Edmunds & Hale).

5) KRAFT. Arch. der Pharmacie 1906 Bd. 214 p. 336 (gecit. n. Edmunds & Hale).

6) BARGER & DALE. Biochem. Journ. vol. 2, pag. 240 1907.

7) Zie BARGER & DALE. The presence in ergot. and physiological activity of β-iminazolylethylamine. Proc. Phys. Soc. Journ. of physiol. vol. 40 pag. XXXVIII 1910. BARGER & DALE. Arch. f. exp. Path & Pharmac. Bd. 58 p. 366 1908.

De bloedsdrukstijgende werking wordt verwekt door ergotoxine en parahydroxyphenylaethylamine en de werking op den uterus door β-i en in mindere mate ook door ergotoxine.

Het p-oxyphenylaethylamine (tyramine) werkt volgens Barger & Dale op den overlevenden uterus als adrenaline, dus verslappend. Er moet hier met het oog op latere besprekingen dadelijk bij worden opgemerkt, dat dit geldt voor den katte-uterus, maar niet voor den overlevenden cavia-uterus. Op dit laatste orgaan heeft para-oxyphenylaethy lamine wel degelijk ook een prikkelende werking, zij het ook in veel mindere mate dan β-i.

Na dit onderzoek was dus zeker, dat met de hanekammethode in hoofdzaak het ergotoxinegehalte van de secalepraeparaten werd bepaald en met de uterusmethode vooral het β-i gehalte. Wel merkwaardig is dus — en ook Edmunds en Hale hadden dit resultaat niet verwacht — dat bij vergelijkende proeven, waarbij verschillende secalepraeparaten met verschillende methoden werden onderzocht, bleek, dat de hanekammethode ongeveer dezelfde uitkomsten gaf als de uterusmethode.

Edmunds en Hale beschouwen op grond van hun onderzoekingen de hanekammethode als de beste. Zij geven voor deze methode de volgende voorschriften.

Voor elk onderzoek worden eenige jonge hanen gebruikt van denzelfden leeftijd (de gevoeligheid wisselt met den leeftijd) en van hetzelfde ras. „Leghorns'' schijnen de beste te zijn. Bij de dieren wordt beurtelings een hoeveelheid van een standaard- en van een onbekend praeparaat in de borstspier ingespoten. Na één uur wordt nagegaan of de kam blauw gekleurd is. Als toets voor de werking wordt genomen, het optreden van een duidelijk waarneembare verkleuring en van beide praeparaten wordt nu bij eenige hanen de dosis bepaald, die juist deze werking uitoefent. Deze dosen worden dan aan elkaar gelijk gesteld.

Aangezien het moeilijk is, een standaardextract van constante werking in voorraad te houden, wordt aangegeven, dat de werking van 2 c.M^3. van een standaardfluidextract moet overeenkomen met die van 5 mgr. ergotoxine.

Edmunds & Hale geven aan, dat men dezelfde hanen herhaaldelijk voor deze proeven kan gebruiken, maar dat men tusschen twee opeenvolgende inspuitingen 1 à 2 dagen moet laten verloopen.

2e. *De bloedsdrukmethode.*

Na injectie van secalebestanddeelen bij een dier kan men — al naar den aard van het dier, het gebruikte narcoticum enz. — een bloedsdrukstijging of een bloedsdrukdaling zien optreden. Het toedienen van een narcoticum heeft hierop grooten invloed. Dale [1]) vond o.a. in aethernarcose de bloedsdrukstijgende werking van secalebestanddeelen verminderd. Werkt men op gedecerebreerde dieren dan kan men regelmatig een stijging van den bloedsdruk verwachten. Men heeft getracht hiervan gebruik te maken bij het ijken van secalepraeparaten maar daarbij weinig gunstige resultaten verkregen.

Edmunds en Hale o.a. werkten op honden, die met morphine

1) Dale. Journ. of physiol. vol 34 pag. 163. 1916.

genarcotiseerd waren. Zij kregen weliswaar steeds een bloedsdrukstijging na de injectie der secalepraeparaten, maar overigens gaf de methode hun geen nauwkeurige quantitatieve uitkomsten. Zij beschouwen de bloedsdrukmethode dan ook als niet geschikt tot ijking van secalepraeparaten, in tegenstelling met DIXON [1]), die in 1905 mededeelde, dat hij deze methode als de beste beschouwde.

3e. *De uterusmethode.*

EDMUNDS en HALE verrichten hun onderzoekingen zoowel met den overlevenden uterus, als met den uterus in het intacte dier. De techniek dezer beide methoden wordt later uitvoerig beschreven. Hier moet alleen worden aangestipt, dat EDMUNDS en HALE over het werken op den overlevenden uterus niet zeer tevreden zijn. Zij gebruikten den uterushoorn van de kat en brachten die in Ringersche vloeistof, daarbij maakt herhaaldelijk het orgaan veel spontane bewegingen, wat het arbeiden natuurlijk zeer bemoeilijkt. Hieronder zal worden uiteengezet, hoe men aan deze moeilijkheid kan ontkomen. Ook valt op, dat EDMUNDS en HALE allerlei praeparaten, o.a. ook alcoholhoudende, op den overlevenden uterus onderzoeken, hiermede kan men (vergelijk blz. 13) fouten maken.

Bij het werken op den overlevenden uterus ondervinden EDMUNDS & HALE dus bezwaren ; trouwens wanneer op de intacte kat werd gewerkt, gaf de uterusmethode ook niet altijd even gemakkelijk een goed resultaat, zooals o. a. uit een citaat uit hun mededeeling blijken kan. Wanneer zij n.l. uiteenzetten, dat men moet trachten, een gelijk effect op den uterus te verkrijgen door wisselende hoeveelheden van twee verschillende praeparaten toe te dienen, laten zij erop volgen: „It is by no means easy to accomplish this, and frequently it calls for the exercise of considerable patience, as, for example, it is not an unusual experience to carry on such an experiment for two or three hours and, on account of the irritability of the uterus as shown by spontaneous contractions, to know very little more about the relative strengths of the two specimens at the end than at the beginning of the experiment."

Hoewel dus ook het onderzoek op de intacte kat met moeilijkheden gepaard kan gaan, geven EDMUNDS en HALE toch aan deze methode de voorkeur boven die, waarbij de overlevende uterus benut wordt. Later blijkt echter dat de reden voor deze voorkeur niet is, dat de laatste methode (overlevende uterus) minder nauwkeurig zou zijn, want wanneer zij tenslotte de uitkomst vergelijken, die bij 6 secalepraeparaten werden verkregen, met de uterusmethode en met de andere methode, dan wordt uitdrukkelijk vermeld, dat van de proeven op den uterus „the larger number" op den *overlevenden* uterus werd verricht.

Welk resultaat nu met de drie methoden verkregen werd, blijkt uit tabel 4, die aan EDMUNDS en HALE is ontleend.

---

1) DIXON. Pharm. Journ. vol. 75, p. 155. 1905. (gecit. n. Edmunds and Hale).

Tabel 4.

	Cock's comb.	Uterus.	Blood pressure rise.
			%
Spanish ergot	5.0	5.0	51.0
cornutol	5.0	—	—
russian ergot	6.5	6.0	50.0
WYETH's ergot, purified	8.0	—	—
SHARPE & DOHME, fluid extract	10.0	11.0	83.0
ergotole	15.0	—	—
PARKE, DAVIS & Co., fluid extract ..	20.0	18.0	33.5
H. K. MULFORD & Co., fluid extract	20.0	20.0	38.0
ergone	?	+50.0	7.0

Duidelijk springt in het oog, dat de uitkomsten van de uterusmethode en van de hanekammethode goed met elkaar overeenstemmen, maar dat de bloedsdrukmethode minder regelmatige waarden geeft.

Aan het slot van hun publicatie deelen EDMUNDS en HALE mede, dat zij voor het ijken van secalepraeparaten de voorkeur geven aan de hanekammethode. Het feit echter, dat de uterusmethode gelijke uitkomsten geeft, bewijst tevens dat ook deze methode (en de meeste proeven waren op den *overlevenden uterus* gedaan!) goed bruikbaar is.

Naar wat uit de onderzoekingen van DALE omtrent de werking der verschillende secalebestanddeelen bekend is, moet het wel bevreemden, dat de hanekammethode en de uterusmethode dezelfde uitkomsten geven. Op den hanekam toch werkt vooral het ergotoxine, op den uterus vooral het histamine.

Men moet dus hieruit wel besluiten, dat óf in secalepraeparaten naast het ergotoxine slechts betrekkelijk weinig histamine voorkomt óf de onderlinge verhouding waarin ergotoxine en β-i erin voorkomen weinig verschilt bij de verschillende praeparaten. In een later onderzoek, dat EDMUNDS en HALE met andere praeparaten verrichtten, werd eenzelfde goede overeenstemming gevonden.

Behalve de drie genoemde methoden moet nog een andere vermeld worden, n.l. de methode van BARGER en DALE. Hun methode [1]) berust op het door hen het eerst waargenomen feit, dat ergotoxine de uiteinden van die sympatische vezels in de gladde spieren, die een prikkelende werking uitoefenen, verlamt, zoodat adrena-

---

1) BARGER & DALE. Ergotoxine and some other constituents of ergotoxine. Bioch. Journ. vol. 2 pag. 240, 1907.

line bijv. daarna geen bloedsdrukstijging meer kan teweegbrengen, maar een daling van den bloedsdruk geeft. Zij bepaalden nu de kleinste dosis van een secalepraeparaat, dat onder bepaalde omstandigheden nog in staat was de „omkeering" (reversal) van de adrenalinewerking teweeg te brengen.

Dale gebruikte deze methode nog in 1913 voor het ijken van secalepraeparaten ; of hij het thans ook nog doet is mij niet bekend, wellicht is hij tot de hierna te beschrijven uterusmethode overgegaan, die o.a. voor het quantitatief onderzoek van het pituitrine en voor een aantal aminen door hem wordt gebruikt [1]).

De uterusmethode voldoet ongetwijfeld het meest aan den eisch, dat de werking van het vergift, die als criterium voor de sterkte van het praeparaat wordt genomen, zooveel mogelijk met de therapeutische overeenkomt. Voor het „omkeeringseffect" en voor de bloedsdrukmethode is dit twijfelachtig, voor de werking op den hanekam is (zie boven) bewezen, dat daarmede dezelfde uitkomsten als met de uterusmethode worden verkregen. Deze laatste methode, en dan wel in het bizonder wanneer op den *overlevenden* uterus wordt gewerkt, behoort zeker tot de meest gebruikelijke en wordt ook in het pharmacologisch instituut te Utrecht steeds benut ; zij zal dus hier uitvoerig worden beschreven.

Het eerst is deze methode benut door Kehrer [2]) die, gebruik makende van de techniek die Magnus [3]) voor den overlevenden dunnendarm had uitgewerkt, de werkzaamheid van verschillende secalepraeparaten onderzocht op den overlevenden uterushoorn van de kat.

De kat werd hiertoe gedood, de buik geopend en de uterus uitgesneden: Eén der hoorns werd in Ringersche vloeistof gebracht en de bewegingen geregistreerd. De uterushoorn van de kat maakt n.l. in deze vloeistof als regel vrij sterke spontane bewegingen. Door toevoeging van een secale-praeparaat aan de vloeistof, waarin zich de uterushoorn bevond, kreeg Kehrer een vergrooting der contracties of een stijging van den tonus van den uterushoorn en deze werking gebruikte hij als toets voor de sterkte zijner praeparaten.

Hij bepaalde n.l. voor elke te ijken stof de minimum hoeveelheid, die in 200 c.M^3. Ringersche vloeistof gebracht, nog juist een duidelijk prikkelende werking op den uterushoorn uitoefende. Deze hoeveelheid, die bijv. voor poeder van het moederkoren 10 mgr. bedroeg, noemt hij een „Einheit" Kehrer bepaalde voor een 25-tal praeparaten de waarde, uitgedrukt in „Einheiten" en kon tevens onderzoeken in hoeverre een bepaald monster secale na verloop van tijd in werking achteruitging. Uit Kehrer's tabel blijkt dat geen overeenstemming bestaat tusschen de in „Einheiten" uitgedrukte sterkte van verschillende secale praeparaten en de doseering die in de therapie voor die geneesmiddelen gebruikelijk is. 1 c.M^3. Secacornine bijv. (een patentmiddel van Roche) staat volgens de mededeeling van de fabriek in therapeutische waarde ongeveer gelijk met 4 gr. secale. Volgens Kehrer's onderzoek echter is het identiek met 100 gr. secale. Kehrer besluit uit dergelijke

1) Barger & Dale. Chemical structures and sympathomimetic action of amines. Journ. of physiol. vol. 41 pag. 19. 1910.

2) l. c.

3) R. Magnus. Versuche am überlebenden Dünndarm von Säugethieren I Mitt. Pflüg. Arch. Bd. 102 pag. 123, 1904.

waarnemingen, dat blijkbaar bij de secalepraeparaten de afstand van de therapeutische tot de toxische dosis zeer groot moet zijn, omdat van secacornine-inspuitingen geen nadeelen zijn gezien. Het is echter eveneens mogelijk, dat de fabrikant, die de verhouding 1 c.M^3. secacornine voor 4 gr. secale opstelde, een veel sterker secalepraeparaat als vergelijkingsobject heeft gebruikt als KEHRER. Bovendien bestaat de kans nog, dat de door den fabrikant opgegeven verhouding onjuist is. Zeker is dat de patentmiddelen, die de zuivere basen bevatten, wel nadeelige gevolgen voor den patiënt kunnen hebben. Mij is medegedeeld dat het β-imidazolylaethylamine (het imido van Roch ·) om deze reden zoo weinig ingang in de practijk heeft gevonden.

Het andere punt dat KEHRER onderzocht, het verminderen in werkzaamheid van secale na langdurig bewaren, is met het oog op latere besprekingen van belang. KEHRER vond, dat secale na één jaar 7—8 maal, na 2 jaren 15 maal minder werkzaam was geworden. Van het secale waren dan de sclerotia als zoodanig en dus *niet* het extract bewaard.

Eenige bizonderheden van KEHRER's techniek moeten nog besproken worden. Het bevestigen van den uterus aan den hefboom, keuze van vloeistof enz. komt later nog ter sprake, hier zij alleen vermeld, wat speciaal bij KEHRER's werkwijze van belang is.

KEHRER doet zijn proeven op den uterus van een niet zwangere (liefst virginale) kat. De maand Januari is een ongunstige maand. De katten moeten niet te lang in een nauw hok opgesloten zijn geweest en niet ziek zijn. Als regel voert de uterushoorn spontane contracties uit, wordt nu een secalepraeparaat toegediend, dan treedt een prikkeling op, die zich kan uiten door:

a. versterking der automatische bewegingen met- of zonder tonusvermeerdering;
b. voorbijgaande tonusvermeerdering met gelijkblijven der automatische bewegingen;
c. sterke stijging van den tonus, waarbij de automatische bewegingen kleiner worden.
d. tetanus uteri.

Wanneer nu een bepaalde hoeveelheid secale juist nog een prikkelingseffect geeft, dat zich op een der boven beschreven wijzen uit, was de toegediende dosis secale een „Einheit".

Voor de bereiding van een waterige oplossing van de werkzame bestanddeelen van het secale, nam KEHRER 2 gr. grofkorrelig poeder van secale cornuti, hieraan werd 20 c.M^3. gedistilleerd- of physiologisch water toegevoegd en dit werd 4½ uur in de broedstoof bij 38° gehouden. Het roodviolette filtraat, dat hierbij verkregen werd, gebruikte KEHRER voor de ijking van het secale.

Bij KEHRER's methode wordt dus de sterkte der secalepraeparaten niet met die van een standaardpraeparaat vergeleken, maar de sterkte wordt in absolute maat uitgedrukt, n.l. in „eenheden". Een eenheid is de minimum dosis, die op den overlevenden uterus, die zich in 200 c.M^3. Ringersche vloeistof bevindt, nog een duidelijk waarneembare prikkeling uitoefent. Hij geeft echter uitdrukkelijk aan, dat een „Einheit" van verschillende praeparaten niet eenzelfde therapeutisch effect op den mensch uitoefent. KEHRER neemt aan, dat de gemiddelde prikkelbaarheid van den nietzwangeren katte-uterus vrij constant is. Alleen in de maand Januari kan niet worden gewerkt.

In het pharmacologische instituut te Utrecht wordt bij de ijking van secalepraeparaten ook de invloed op den overlevenden uterus nagegaan, maar overigens wijkt onze werkwijze vrij aanzienlijk

van die van KEHRER af, zoodat de door ons gebruikte methode uitvoerig zal worden beschreven.

Onze methode komt bijna geheel overeen met die welke DALE voor de standaardisatie van pituitrine gebruikt [1]) en zij wijkt in 2 opzichten van die van KEHRER af. In de eerste plaats wordt niet de geisoleerde kattenuterus gebruikt, maar de geisoleerde uterushoorn van een jonge maagdelijke cavia, die ca. 250 à 300 gr. weegt. De uterushoorns van deze caviae zijn veel gevoeliger dan die van katten. Op deze cavia-uteri wordt nu niet — zooals KEHRER doet — de kleinst werkzame gift bepaald, maar de werking van het secale-monster van onbekende sterkte wordt vergeleken met de werking van een bekende stof *op denzelfden uterushoorn*. Men kan dit doen omdat — zooals DALE aantoonde — de werking van een aantal stoffen op den overlevenden uterus (en op andere organen) volkomen reversibel is. Men behoeft slechts de Ringersche vloeistof, waarin het orgaan zich bevindt, eenige malen door versche vloeistof te vervangen en de uterus verkeert weer in volkomen denzelfden toestand als te voren. En wanneer eenige malen achtereen eenzelfde hoeveelheid van een prikkelend vergift gegeven wordt, is de werking daarvan op den uterus als regel geheel dezelfde. Men kan dus — vergelijk het op blz. 11 uiteengezette — eerst eenige malen het standaardpraeparaat geven, dan het onbekende praeparaat en dan weer het standaardpraeparaat. Op deze wijze voortgaande kan men de dosis van het onbekende praeparaat steeds laten wisselen, totdat tenslotte standaardpraeparaat en onbekend praeparaat eenzelfde werking uitoefenen; dan mag men de gebruikte dosen aan elkaar gelijkstellen.

Als standaardpraeparaat kan nu niet een extract van secale gebruikt worden, omdat dit bij langdurig bewaren in sterkte afneemt. Men moet dus een andere stof nemen, en wel een stof die ten eerste liefst chemisch zuiver te verkrijgen is, zoodat men zeker is, dat zij voortdurend dezelfde werkzaamheid heeft en ten twoede een concentratiewerkingscurve heeft die overeenkomt met die van secale. Aan deze beide eischen voldoet het β-imidazolylaethylamine (histamine), een base die in secale cornutum voorkomt en waarvan de werking nauwkeurig is onderzocht door DALE & LAIDLAW [2]).

Bij het ijken van secale cornutum wordt door ons uitsluitend gebruik gemaakt van het volgens de pharmacopee bereide *extr. sec. cornuti.* Het fluidextract en de tinctuur kunnen niet op den overlevenden uterus worden onderzocht omdat zij alcohol bevatten en alcohol heeft een remmenden invloed op de uterusbewegingen. Deze alcoholwerking zal zich niet heel sterk doen gelden bij zeer werkzame praeparaten, omdat men daarvan betrekkelijk zoo weinig noodig heeft, dat het alcoholgehalte niet veel invloed kan hebben, maar bij een vergelijkend onderzoek naar de werkzaamheid van tinct. secalis cornuti, tinctura erodii en tinctura rad. senecionis bleek mij toch, dat in bepaalde gevallen het alcoholgehalte te hoog is, om een nauwkeurige ijking van deze praeparaten mogelijk te maken. Bij toediening van kleine hoeveelheden van deze tincturen aan de vloeistof, waarin zich de overlevende uterushoorn bevindt, krijgt men wel een duidelijke werking, maar bij groote dosen wordt die werking niet naar evenredigheid grooter en na nog hoogere dosen vermindert de werking zelfs, zoodat men een concentratie-werkingscurve krijgt, zooals schematisch in fig. 10 is voorgesteld.

Men kan natuurlijk uit de alcoholhoudende praeparaten den alcohol door indampen verwijderen, maar men krijgt dan veelal een neerslag dat niet geheel in water oplosbaar is en men is dan niet zeker, dat niet werkzame stof verloren gaat. Daarom heb ik steeds alleen alcoholvrije extracten van secale onderzocht, en ook het fluidextract uitgesloten.

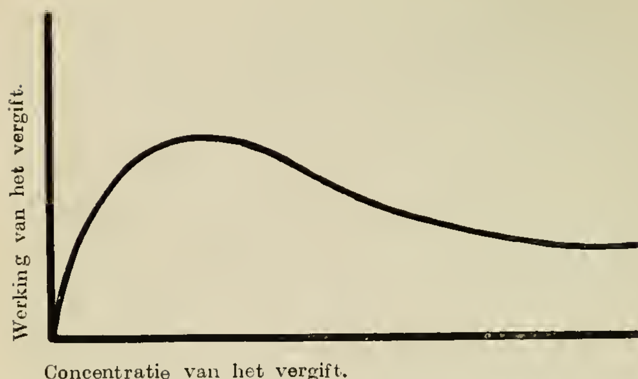
Nog een voorzorg dient genomen te worden. Het secale-extract mag niet te sterk zuur reageeren, daar een te hooge zuurgraad (vergel. blz. 13) een nauwkeurige ijking

1) H. DALE & P. LAIDLAW. A method of standardising putuitary (infundibular) extracts. Journ. of pharm. & exp. therap. vol. 4, pag. 75. 1912.

2) H. DALE & P. LAIDLAW. The physiological action of β-iminazolylethylamine Journ. of physiol. vol 41 pag. 318. 1910.

Fig. 10.

Schema eener abnorme concentratie-werkingscurve.



verhindert. Men krijgt dan n.l. hetzelfde als bij de alcoholhoudende extracten; kleine dosen geven een duidelijke werking op den uterus, maar bij grootere dosen wordt die werking niet veel sterker en vermindert zelfs bij nog grootere dosen. De verklaring is waarschijnlijk de volgende. Het is zeer waarschijnlijk, dat verschillende vergiften, waaronder de plantenbasen, voor zij hun werking op de organen uitoefenen, specifiek worden geadsorbeerd door bepaalde bestanddeelen van die organen. 1) Het eigenaardig verloop van de C—W curve van deze vergiften wordt door het aannemen van een specifieke adsorptie verklaarbaar, maar tevens is duidelijk, dat dus een zuur extract minder werkzaam zal zijn dan een neutraal extract, want verhooging van de zuurgraad van het milieu vermindert de adsorptie der basische vergiften. 2) Omgekeerd moet men verwachten, dat het alkalisch maken van het milieu de adsorptie en daarom dus de werking versterkt. Dit is ook inderdaad het geval en daarom heb ik steeds gezorgd, dat de door mij onderzochte secale-extracten slechts zeer zwak zuur reageerden (volkomen neutraliseeren is zeer moeilijk wegens de donkere kleuren van de extracten).

De ijking van de secale extracten geschiedt als volgt:

Een jonge maagdelijke cavia wordt door nekslag gedood, en onmiddellijk daarna wordt de buik geopend. De ingewanden worden op zijde gelegd en men vindt dan achter de blaas den uterus. Het corpus uteri wordt met een pincet gepakt, de beide uterushoorns voorzichtig van het ligamentum latum losgeknipt en vervolgens de geheele baarmoeder uitgenomen. Een der hoorns wordt dicht bij het corpus afgeknipt en voor de proef gebruikt, de andere wordt in physiologische vloeistof bewaard voor een volgende proef. De uterushoorn, die gebruikt zal worden, wordt van boven en van onderen van een serre-fine voorzien en in een glazen vat zoo opgehangen, dat zijn contracties op een kymographion kunnen worden geregistreerd. De glazen vaten, die hiervoor gebruikt worden

Fig. 11.



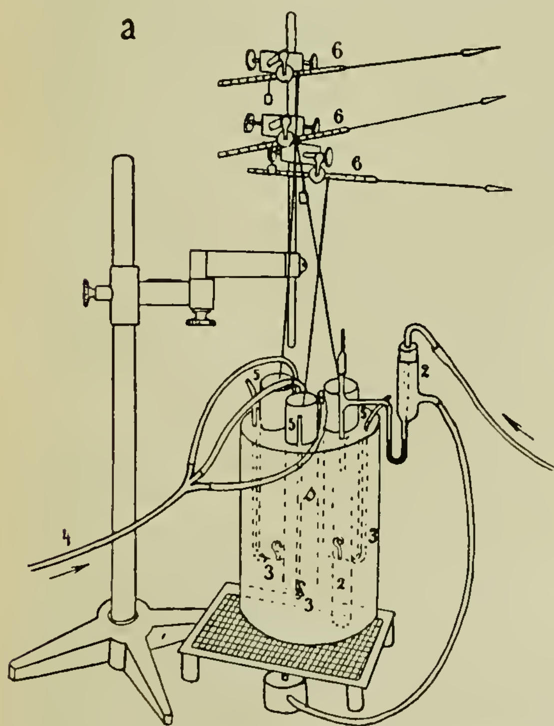
Glazen vat van 75 c.M³. inhoud in gebruik bij proeven op overlevende organen.

1) W. Storm van Leeuwen over het verband tusschen werking en concentratie bij verschillende geneesmiddelen. Mededeeling op den 3den physiologendag te Amsterdam 1917. Verschijnt uitvoerig in Pflüger's Archiv.

2) Afgescheiden hiervan veroorzaakt ook reeds een vermindering van de OH-ionen concentratie een vermindering der bewegingen van een overlevend orgaan.

hebben een vorm als in fig. 11 is aangegeven. Van de 2 zijbuisjes, die beide in den bodem van het vat uitmonden, dient het éene voor zuurstoftoevoer, het andere dient om de vloeistof snel weg te kunnen zuigen, wanneer ze moet worden ververscht. Bij deze wisseling van voedingsvloeistof wordt dan, terwijl door de zijbuis de vloeistof weggezogen wordt, van boven nieuwe Tyrode vloeistof van 38° toegevoegd. Drie van dergelijke vaten die een inhoud hebben van 75 c.M³. (voor sommige doeleinden wordt een vat van 15, een van 75 en een van 150 c.M³. genomen) worden in een groot met water gevuld bekerglas geplaatst. Dit staat op een metalen statief waaronder een kleine gasbrander is geplaatst. De gastoevoer in dezen brander wordt geregeld door een thermo-regulator, die zich in het bekerglas bevindt. Door middel hiervan wordt de temperatuur in de vaten waarin zich de overlevende organen bevinden constant gehouden. Men kan met een dergelijk toestel de bewegingen van drie uterushoorns tegelijkertijd registreeren. (Zie fig. 12). In het pharmacologisch instituut zijn op een afzonderlijk kymographion 4 van deze toestellen gemonteerd, zoodat de bewegingen van 12 overlevende organen tegelijkertijd kunnen worden opgeteekend. (Zie voor uitvoerige beschrijving v. LIDTH DE JEUDE). [1])

Fig. 12.



Toestel, in gebruik bij het gelijktijdig registreeren van de bewegingen van 3 overlevende orgaanstukken.

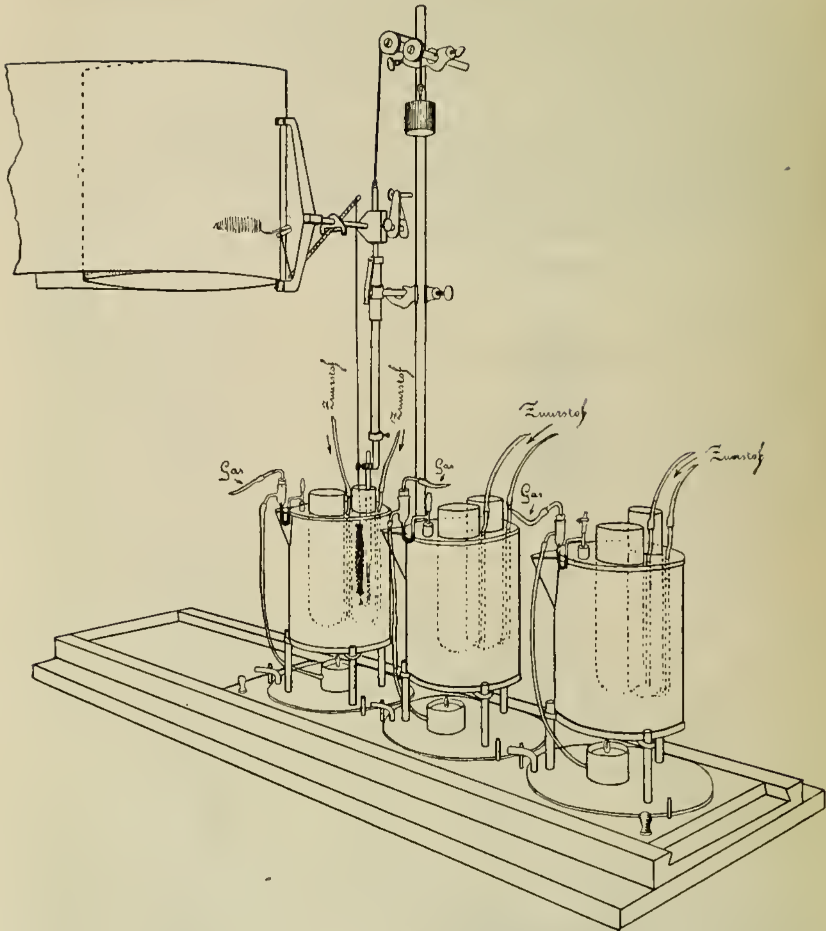
1 bekerglas; 2 thermoregulator; 3 glazen vat voor het overlevend orgaan; 4 toevoer zuurstof; 5 buisje voor uitwasschen; 6 hefboomen.

Met een ander toestel, dat in het laboratorium in gebruik is, gaat het verwisselen van de Tyrrodevloeistof, het z.g. „uitwasschen" van het vergift eenvoudiger. Dit toestel is nog niet beschreven, zoodat een korte beschrijving op haar plaats is.

Bij dit apparaat (vergel. fig. 13) wordt de uterus niet op den bodem van het vat vastgemaakt, maar aan het omgebogen eind van een glazen staaf, die tot in het glazen vat reikt. Dit is een wijze van bevestigen, zooals die vroeger altijd benut werd. De glazen staaf is bevestigd aan een metalen staaf. Deze laatste draagt tevens den hefboom, die de contracties van het orgaan opteekent. De metalen staaf is in vertikale richting beweegbaar in een metalen manchet, zoodat ze met een enkele handbeweging kan

1) A. VAN LIDTH DE JEUDE. Acad. Proefschrift. Utrecht 1916.

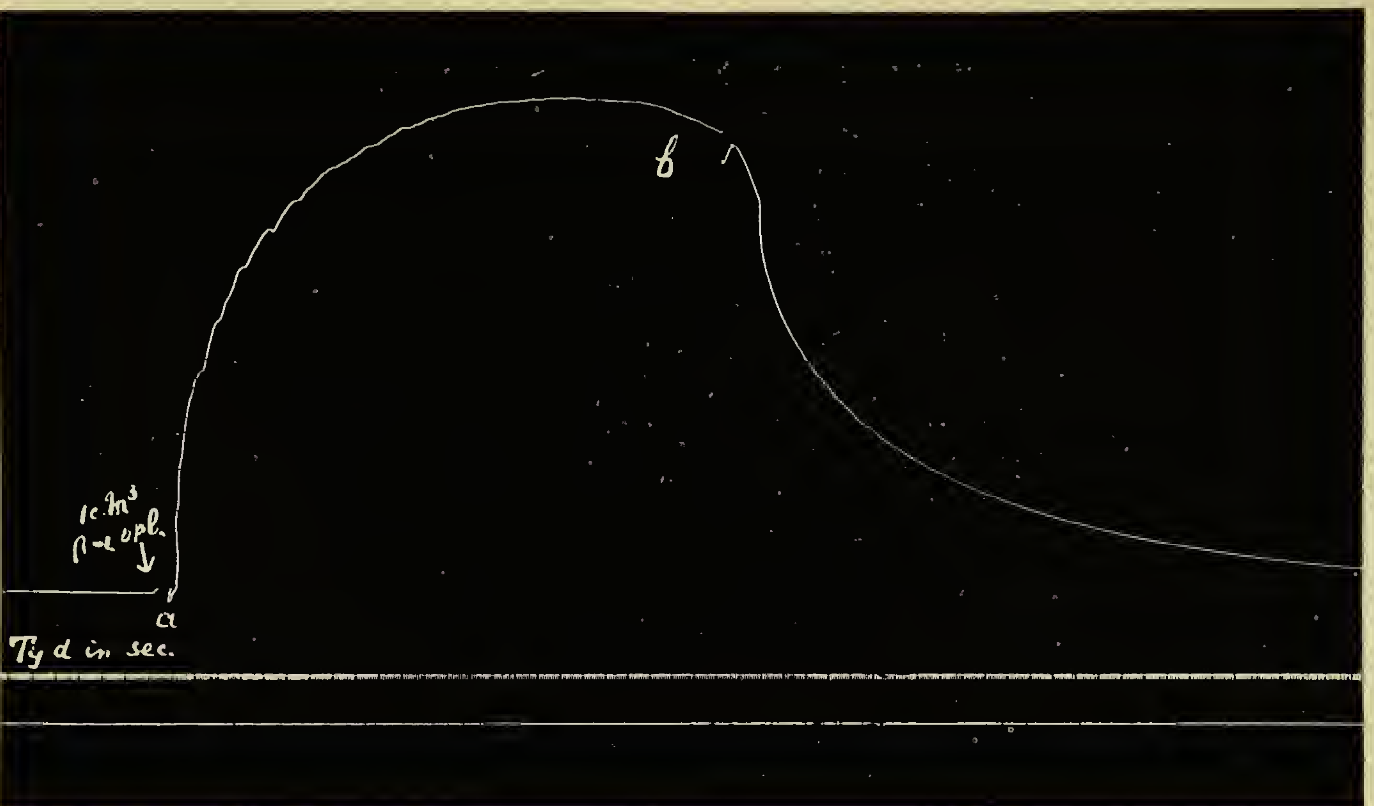
Fig. 13.



Toestel voor het registreeren van de bewegingen van een overlevend orgaan met eenvoudige inrichting voor het uitwasschen van toegevoegde vergiften en voor het werken bij verschillende temperaturen.

worden opgeschoven, waarbij de uterushoorn uit de vloeistof komt, zonder dat aan het verband tusschen hefboom en uterus iets wordt veranderd, want de hefboom gaat mede naar boven. Het glazen vat, waarin de uterus zich bevindt en dat een inhoud heeft van 75 c.M^3., staat niet in een glazen- maar in een roodkoperen vat, waarin zich bovendien nog een tweede vat (van 150 c.M^3. inhoud) bevindt en het geheele metalen vat is met den daaronderstaanden brander bevestigd op een schijf, die draaien kan. Alles is nu zoo ingesteld, dat zoodra de staaf, die uterus en hefboom draagt, is opgeschoven, met een enkele handbeweging het metalen vat gedraaid kan worden, zoodat de uterus, wanneer men hem weer laat zakken, in het

Fig. 14.



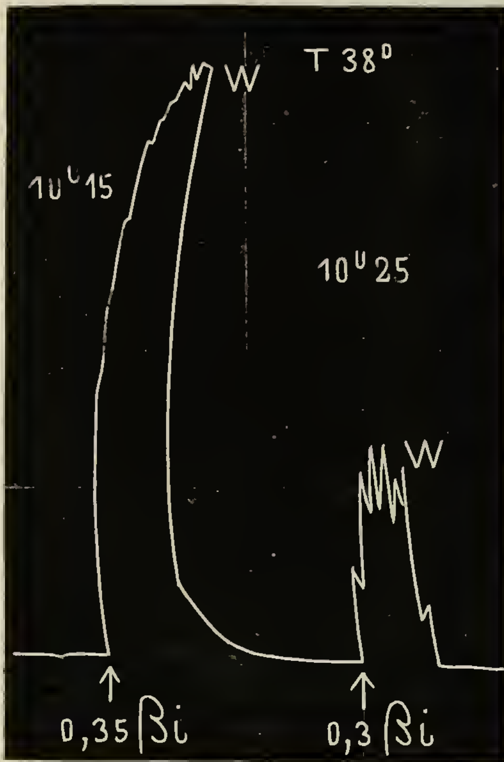
Overlevende uterushoorn in Tyrode vloeistof. Bij *a* wordt 1 c.M³. van een histamine oplossing toegevoegd, bij *b* wordt het vergift uitgewasschen.

vat van 150 c.M³. inhoud terecht komt. Het vergift wordt dan in dit vat uitgewasschen en men kan het omzetten van het éene vat in het andere zoo snel doen, dat de curve, die op het kymographion wordt opgeteekend, nauwelijks wordt onderbroken, zoodat ook het geheele proces van uitwasschen — indien men dat wil — nauwkeurig kan worden geregistreerd.

Het hier beschreven toestel is een onderdeel van het groote, in Fig. 13 afgebeelde, apparaat, dat drie metalen vaten bevat, die met hun draaibare schijf op een plank zijn gemonteerd, welke heen en weer kan worden geschoven. Men kan nu den uterus naar willekeur in elk van de 6 vaten brengen, die totaal in de 3 metalen bakken aanwezig zijn. Dit is bijv. van belang indien men de werking van vergiften bij verschillende temperatuur wil onderzoeken.

Fig. 14 geeft een curve, die is opgenomen met het beschreven toestel. Bij *a* is het vergift toegediend (histamine), bij *b* wordt de uterus in het vat van 150 c.M³. gebracht, waarin geen vergift zich bevindt en wordt dus „uitgewasschen". Deze curve is opgenomen niet met een gewonen hefboom maar met den door KEITH LUCAS beschreven hefboom, waarvan de schrijfpunt zich in loodrechte richting over het kymographion beweegt, zoodat nauwkeurige curven worden verkregen. Deze hefboom is afgebeeld bij LANGLEY [1]).

Fig. 15 a.



Invloed van verschillende hoeveelheden histamine en extr. sec. corn. op den overlevenden uterushoorn.

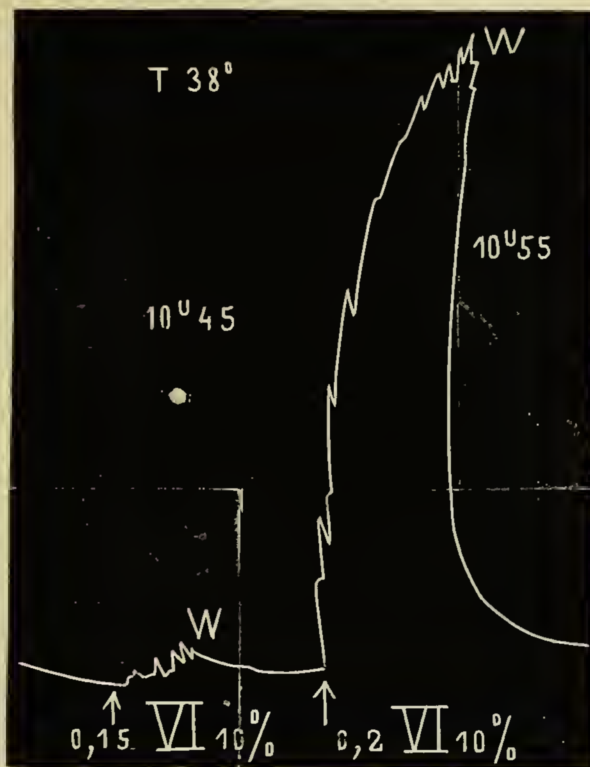
Als voedingsvloeistof voor den overlevenden uterus wordt de door Tyrode aangegeven vloeistof gebruikt of de vloeistof van Locke-Ringer. Herhaaldelijk komt het voor, dat in deze vloeistoffen de uterushoorn zooveel spontane bewegingen maakt, dat het zeer moeilijk wordt, de werking van een toegevoegd vergift te beoordeelen. Het is dan aan te bevelen om het calciumgehalte van de vloeistof tot op de helft te verminderen, dan komen de spontane samentrekkingen van den uterus haast niet meer voor en blijft het orgaan toch goed prikkelbaar voor histamine of secale.

De grootte van de samentrekking, die de uterushoorn verricht na toevoeging van een vergift is behalve van den aard van

1) J. N. LANGLEY. The nerve fibres of the bladder. Journ. of physiol. vol. 43 pag. 127. 1911.

het vergift en van de grootte van de dosis ook sterk afhankelijk van de belasting. Meestal is het aan het begin van een proef noodig om aan den hefboom waarmede de uterus zijn contracties opschrijft, een vrij groot gewicht te hangen om het orgaan te rekken. Door het manipuleeren bij het bevestigen van den uterushoorn in het toestel verkeert hij n.l. meestal in maximale contractie en biedt sterken weerstand tegen rekking. Nadat gedurende 10 à 15 minuten een gewicht van 5 à 10 gr. aan den hefboom heeft gehangen is die weerstand meestal overwonnen en de uterus geheel slap. Het gewicht kan dan door een kleiner worden vervangen en dit mag dan gedurende de geheele ijking niet meer veranderd worden.

Fig. 15 b.



Wanneer de uterushoorn nu de maximale lengte heeft, dus geheel verslapt is, kan het onderzoek beginnen. Eerst wordt een zeer kleine hoeveelheid β-i gegeven en langzaam bijgedruppeld totdat de uterus reageert. Dan wordt uitgewasschen en daarna nog eenige malen β-i toegevoegd in telkens wisselende dosen, totdat die hooveelheid govonden wordt, die een minimale en die hoeveelheid die een bijna maximale werking geeft. Ik gebruik als regel een oplossing die per 50 c.M³. 1 mgr. β-i bevat. Van deze oplossing is 0.15 à 0.5 c.M³. noodig om het gewenschte effect te verkrijgen.

Is nu de minimale en de bijna maximale dosis gevonden, dan is voor de β-i de zone bepaald, waarin de ijking zal geschieden (vergel. blz. 15). Dezelfde twee waarden worden dan gezocht voor de secale-oplossing. Heeft men die gevonden, dan zoekt men in de „middenzone" een dosis secale die eenzelfden uitslag geeft als die welke een bepaalde dosis β-i geeft. Men kan dan deze beide dosen aan elkaar gelijk stellen. Dikwijls gelukt het niet, deze overeenstemming te vinden en dan is het ook voldoende om te zoeken een dosis secale, die een iets grootere en een dosis secale, die een iets kleineren uitslag geeft dan de gegeven hoeveelheid histamine. Het gemiddelde der beide secale-

dosen kan dan aan de β-i dosis worden gelijk gesteld. Of men de eerste wijze van berekenen volgt (het gelijkstellen van dosen die gelijke werking hebben) of de laatste, waarbij het gemiddelde van 2 secale-dosen genomen wordt, maakt niet veel verschil, juist omdat in de zone waarin gewerkt wordt de C—W curve zulk een steil verloop heeft waardoor kleine verschillen in dosen groote verschillen in werking geven. Maar noodig is dat men steeds vóór men een proef voor een berekening gebruikt, nog éénmaal de oorspronkelijke β-i oplossing toevoegt, om zeker te zijn, dat de gevoeligheid van den uterus in den tusschentijd niet is veranderd.

Fig. 15 c.

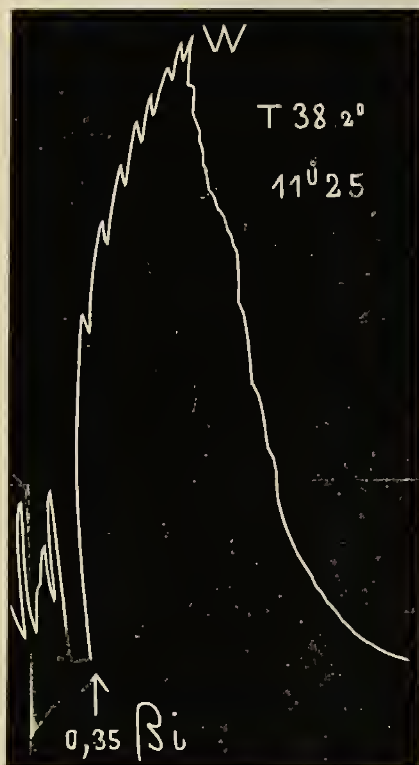


Fig. 15 c is opgenomen 1 uur na fig. 15 a. Bij W wordt het vergift uitgewasschen.

Een voorbeeld van een goed gelukte standaardisatie geven fig. 15 a, b en c. In fig. 15 a ziet men, hoe 0.35 c.M³. β-i een bijna maximale contractie gaf, terwijl 0.30 c.M³. der zelfde oplossing een veel kleinero contractie veroorzaakte. In Fig. 15 b gaf 0.15 c.M³. van een 10 % oplossing van een bepaald secale-extract een zeer geringe ; 0.2 c.M³. gaf een bijna maximale contractie. In fig. 15c geeft weer 0.35 c.M³. der β-i oplossing een bijna maximale contractie. Deze curve is opgenomen een uur na die van fig. 15 a en duidelijk is hieruit zichtbaar, dat de gevoeligheid van den uterus gedurende dat uur nagenoeg constant is gebleven. Uit een dergelijke standaardisatie zou men nu kunnen besluiten, dat 0.35 c.M³. β-i in werking overeenkomt met 0.2 c.M³. van het secaleextract, of men zou 0.3 c.M³. β-i gelijk kunnen stellen aan 0.175 c.M³. (het gemiddelde van 0.15 en 0.2 c.M³.) van het secaleextract. Beide berekeningen geven ongeveer hetzelfde resultaat. Overigens meen ik, dat het goed is, als gewoonte aan te nemen, elk te onderzoeken extract te onderzoeken op ten minste twee verschillende uterushoorns. Welke resultaten men met in acht nemen van de medegedeelde voorzorgen kan bereiken, moge uit onderstaande tabel blijken. Hierin zijn samengebracht de uitkomsten van de standaardisaties van 6 secale-extracten die uit verschillende apotheken, A, B, C, D, E en F waren betrokken. Van elk extract waren twee 10 % oplossingen gemaakt, terwijl ik gedurende het onderzoek niet wist, welke oplossingen bij elkaar behoorden.

Tabel 5.

Apotheek	gevonden waarden (V)	verschil in %
A	1.8 1.48	ca. 18 %
B	4 3.72	ca. 7 %
C	50 48	ca. 4 %
D	5.66 5.74	ca. 1.5 %
E	2 2	ca. 0 %
F	2.4 2.4	ca. 0 %

Uit de tabel blijkt, dat de beide waarden, die voor elk extract gevonden werden vrij goed met elkaar overeenstemden, toch bewijst de eerste uitkomst — en ik heb meer dergelijke gevallen gehad — dat men rekening moet houden met de mogelijkheid van een proeffout van 20 %. Men kan natuurlijk door nog meer waarden te nemen deze fout verkleinen. Boven is overigens reeds erop gewezen, dat zelfs een fout van 20 % zeer klein is als men weet dat de extracten die in de apotheken voorkomen onderling 3000 % in werkzaamheid verschillen kunnen.

Om de sterkte van de verschillende secale-praeparaten in een getal uit te kunnen drukken, heb ik op grond van het onderzoek op den uterus aan de extracten een valor toegekend, die ook in tabel 5 reeds is opgegeven. Bij het toekennen van dezen valor is — natuurlijk geheel willekeurig — aangenomen dat als 1 c.M³. van een 1% oplossing van een secaleextract in werking overeenkomt met 1 c.M³. van een β-i oplossing die per c.M³. $^1/_{50}$ mgr. β-i bevat, dat dan de valor van het extract 20 bedraagt. Dit getal geeft dan aan, hoeveel mgr. β-i er (schijnbaar) in 100 gr. van een 10% extract aanwezig is. Tevens heb ik voorgesteld, de geijkte secale-extracten met een zoodanigen valor in den handel te brengen, dat men zeker kon zijn, ook in de toekomst dien valor steeds te kunnen bereiken. Gekozen is de valor 4. Tot nu toe heeft het voor de verschillende groothandelaren nog geen moeilijkheden opgeleverd hun geijkte extracten op valor 4 te brengen.

Zooals vermeld is geschiedde de ijking van secale-extracten tegen β-i omdat aangenomen werd, dat secale extracten bij staan spoedig in werkzaamheid afnemen. Nu is echter later gebleken, dat wanneer deze extracten in gesloten flesschen in het donker bewaard worden, dat dan de sterkte in ieder geval zeer langzaam afneemt. Ik vond o. a. voor het extract uit eenzelfde apotheek bij twee onderzoekingen, met een tusschenruimte van ½ jaar verricht, voor beide een valor 6, bovendien bleek, dat steriele ampullen met 20 % extr. sec. cornuti die in 1913 en in 1915 gevuld waren en in 1916 werden onderzocht in valor niet veel verschilden; die van 1913 hadden bovendien de hoogste waarde. Ik meen dan ook, dat het in de toekomst goed mogelijk zal zijn om extr. secalis tegen een van te voren geijkt extract van secale te standaardiseeren, wat natuurlijk, zooals reeds herhaaldelijk is uiteengezet, een groot voordeel zou zijn. Voorloopig zal men natuurlijk af en toe door een ijking met β-i te doen, zich moeten overtuigen dat het standaardextract gelijk van sterkte is gebleven.

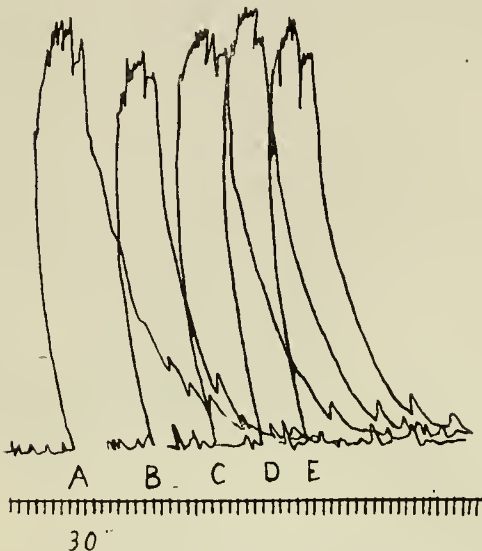
Wanneer men ertoe kan komen, om als standaard voor de ijking een secale-extract te gebruiken, dan heeft men bovendien nog het voordeel, dat inplaats van de cavia-uterus een stuk van een overlevenden dunnendarm van een kat kan worden genomen. Dat geeft een besparing van materiaal omdat de kattedarm, wanneer die van de mucosa wordt ontdaan, langen tijd, tot 7 dagen toe, in de ijskast kan worden bewaard zonder dat de bruikbaarheid voor ijkingen met secale behoeft te verminderen.

De hier beschreven wijze van ijken van secale-praeparaten op den overlevenden cavia-uterus heeft vele voordeelen. Zij geeft een voldoende nauwkeurigheid en bij groote geoefendheid van den onderzoeker kan zelfs in vele gevallen bereikt worden, dat de gemiddelde fout der methode slechts 1 à 5% bedraagt.

***

Niet onvermeld mag blijven, dat DALE bij het werken met de uterus-methode een iets andere maatstaf aanlegt. Hij werkt n.l. niet in de middenzone der C—W curve, maar in de bovenzone. Bij een ijking van pituitrine bijv. zocht hij eerst de dosis van het standaardpraeparaat, die bijna den maximalen uitslag geeft, en zocht daarna de dosis van het onbekende praeparaat, die eenzelfden uitslag veroorzaakte. Is een dosis te hoog, dan is de uitslag n.l. toch *iets* hooger dan de vorige. Hoewel deze zaak eigenlijk onder „pituitrine" thuis behoort, wordt zij hier besproken omdat, naar ik meen, DALE thans ook het secale tegen histamine standaardiseert en nu waarschijnlijk ook daarbij deze methode volgt. Een voorbeeld van een pituitrine-standaardisatie volgens DALE geeft Fig. 16 die aan een mededeeling van DALE en LAIDLAW [2]) is ontleend. Het verschil tusschen den uitslag die door een dosis 0.025 c.M³. van een bepaald extract wordt veroorzaakt met den uitslag van 0.02 c.M³. en 0.03 c.M³. is duidelijk, maar de verschillen in Fig. 15a, b en c zijn veel grooter, dus gemakkelijker te beoordeelen.

Fig. 16 [1]).



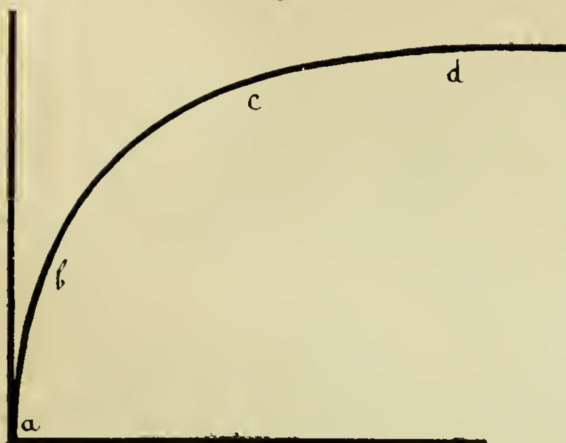
Varying Doses of the Same Extract. Uterus of Rather Low Sensitiveness.

At A, 0,025 c.M³. (abnormal effect of first dose); at B, 0,02 c.M³.; at C, 0,025 c.M³.; at D, 0,03 c.M³.; at E, 0,025 c.M³.

Het verschil tusschen de werkwijze van DALE en de mijne bestaat dus hierin, dat DALE werkt in de zone c—d der C—W curve (zie de schematische voorstelling in fig. 17) en ik in de zone b-c, terwijl KEHRER de minimum werkzame dosis bepaalt en dus in de zone a—b werkt.

1) Ontleend aan DALE en LAIDLAW.

2) H. DALE and P. LAIDLAW. A method of standardising pituitary (infundibular) extracts. Journ. of pharmac. and exp. therap. vol IV, p. 74. 1912.



Tegen het werken op den geïsoleerden uterushoorn is hetzelfde bezwaar in te brengen, dat altijd bestaat bij ijkingen op geïsoleerde organen n.l., dat de werking op dit orgaan niet geheel parallel gaat met de therapentische werking bij toedienen van het middel aan den mensch. Vooral omdat in secale naast het ergotoxine en het paraoxyphenylaethylamine ook nog β-imidazolylaethylamine (histamine) voorkomt, dat zoo buitengewoon sterk werkt, juist op het geïsoleerde orgaan, rijst de vraag of niet geringe schommelingen in het histamine gehalte een te grooten invloed op het resultaat der ijking uitoefenen, zonder dat de invloed van therapentische giften daarmede in overeenstemming zou varieeren. Er is echter gegronde reden om aan dit bezwaar niet al te veel beteekenis toe te kennen, omdat DALE en LAIDLAW [1]) vonden, dat ook bij injectie van histamine bij het intacte dier zeer kleine hoeveelheden (ca. 1 mgr. voor een kat) een maximale contractie van den uterus te weeg brengen.

Bovendien wordt de uterusmethode belangrijk gesteund door de bovenvermelde uitkomsten van EDMUNDS en HALE (pag. 50), die met de hanekammethode en met de uterusmethode gelijke resultaten verkregen.

De methode, waarbij de werking op den overlevenden uterus als toets voor de werkzaamheid der secalepraeparaten wordt gebruikt, voldoet dus aan redelijke eischen. Wil men inspuitingen bij het gehééle dier toepassen, dan heeft dit al dadelijk groote voordeelen als men de werking van een nieuw uterus-middel *qualitatief* wil nagaan. Maar ook voor *quantitatief* onderzoek is zij — volgens EDMUNDS en HALE — zeer geschikt. Deze beide onderzoekers geven

---

1) H. DALE & P. LAIDLAW. The physiological action of β-iminazolylethylamine. Journ. of physiol. vol. 41. pag. 337. 1910.

aan haar zelfs de voorkeur, boven het werken op den overlevenden uterus.

Hoe een ijking van een secale-praeparaat op het geheele dier geschieden kan, zij tenslotte nog in het kort beschreven.

Een kat wordt genarcotiseerd, daarna gedecapiteerd of gedecerebreerd[1]) (zie later blz. 109) vervolgens wordt de buikholte geopend en het geheele dier, behalve de kop, in een bak met physiologisch water van 38° à 39° gebracht. Darm en blaas worden nu terzijde gehouden, een der uterushoorns vrij gepraepareerd van het ligamentum latum en aan de naar het corpus uteri gekeerde zijde gefixeerd door een klem, terwijl aan het vrije einde een serre-fine bevestigd wordt, die naar een hefboom loopt. In een vena jugularis van de kat is van te voren een canule ingebracht, waarin de verschillende inspuitingen kunnen worden verricht. Een uitvoerige beschrijving van de techniek met afbeeldingen vindt men o.a. in het proefschrift van v. Dongen[2]).

Uit het onderzoek van Edmunds en Hale is gebleken, dat wanneer men eenige malen achtereen eenzelfde hoeveelheid secale inspuit, men in gunstige gevallen eenzelfde uitwerking daarvan op den uterus waarnemen kan. Men moet dan dus achtereenvolgens verschillende injecties met een onbekend- en een standaardpraeparaat doen en kan op deze wijze dikwijls een dosis voor beide praeparaten vinden, die dezelfde werking op den uterus uitoefent. Men kan dan die beide dosen aan elkaar gelijk stellen.

Dikwijls is op deze wijze betrekkelijk snel een uitkomst te verkrijgen. Dat zich echter ook herhaaldelijk moeilijkheden voordoen, is reeds op blz. 51 besproken.

De hier vermelde kattenmethode heeft nog het voordeel, dat ook alcoholhoudende praeparaten kunnen worden onderzocht, want bij inspuitingen bij het geheele dier wordt de betrekkelijk kleine hoeveelheid alcohol in de verschillende weefsels voldoende vastgehouden, zoodat nooit een sterke concentratie den uterus bereiken kan.

Voor de ijking van secalepraeparaten beschikt men dus over de volgende methoden :

De hanekammethode.

de „reversal"methode van Dale.

De uterusmethode met inspuitingen bij het *geheele* dier.

Bevatten de praeparaten geen alcohol of zuur, dan is zeer bruikbaar *het werken met den overlevenden uterus*, waarbij de werkwijze van Dale (maar dan zoodanig gewijzigd, dat in de middenzône der C–W curve gewerkt wordt) de voorkeur verdient boven die van Kehrer.

De bloedsdrukmethode schijnt weinig bruikbaar te zijn.

---

1) Edmunds & Hale houden het dier gedurende de geheele proef in chloroformnarcose.

2) J. A. v. Dongen. Pharmacologische en klinische onderzoekingen over erodium cicutarium, een stypticum bij uterus-bloedingen. Acad. proefschr. Amsterdam 1915.

HOOFDSTUK III

EXTRACTUM BELLADONNAE.

De voornaamste werkzame bestanddeelen van het extr. belladonnae zijn ongetwijfeld het atropine en het hyoscyamine. Daarnaast komen echter vermoedelijk nog andere stoffen voor, waaraan een werking moet worden toegeschreven, want er is reden om aan te nemen, dat de werking van extr. belladonnae niet gelijk is aan die van atropine en hyoscyamine. De Ned. pharmacopee ed. IV stelt den eisch, dat het totaal alcaloidgehalte van extr. belladonae minstens 1.15% bedragen zal. Deze eisch is onvoldoende, wat boven reeds uitvoerig is uiteengezet.

Het is dus mogelijk, dat twee belladonna-praeparaten, die beide aan den door de pharmacopee gestelden eisch voldoen, niet dezelfde werking hebben, en deze mogelijkheid wordt zelfs tot een waarschijnlijkheid, wanneer clinici (vergel. bladz. 5) zich over de onbetrouwbaarheid van belladonna-praeparaten beklagen.

Een physiologische waardebepaling van extr. belladonnae zou dus zeker zeer gewenscht zijn. Ook van de zijde van den groothandel wordt dit bezwaar gevoeld. Ik kreeg althans reeds aanvragen om belladonna-praeparaten te ijken. Een goede methode echter bestaat nog niet. Dit komt voor een deel hierdoor, dat de werking, die atropine uitoefent, bijna steeds een negatieve is, d.w.z. het heft bestaande prikkelingstoestanden in glad spierweefsel op en dit maakt het quantitatief onderzoek niet eenvoudiger want men moet bij voorkeur vòòr men de atropinewerking wil bestudeeren een prikkelingstoestand te voorschijn roepen.

Het gemakkelijkst geschiedt dit door toedienen van den bekenden antagonist van atropine, het pilocarpine. *Qualitatief* kan men dan ook kleine hoeveelheden atropine zeer gemakkelijk aantoonen, maar een nauwkeurige *quantitatieve* methode is zeer moeilijk te vinden.

Vermoedelijk echter is in een van de drie volgende richtingen een oplossing te vinden.

a. Door gebruik te maken van het antagonisme atropine-pilocarpine op den overlevenden dunnen darm.

b. Met de kort geleden door TRENDELENBURG medegedeelde methode.
c. Door gebruik te maken van de ervaringen die CUSHNY opdeed bij het bestudeeren van de werking van atropine en hyoscyamine op de kat.
ad a. Het antagonisme atropine-pilocarpine is uitvoerig bestudeerd o. a. door v. LIDTH DE JEUDE [1]). Zijn onderzoek geschiedde echter niet met het doel een *quantitatieve* atropine-methode te vinden. LE HEUX, Mej. v. d. MADE en ik vonden echter, voortwerkend op het onderzoek van v. LIDTH DE JEUDE, dat wanneer de pilocarpine-werking op den overlevenden dunnendarm van de kat wordt opgeheven door een zeer kleine hoeveelheid atropine, dat dan de werking zoowel van het pilocarpine als van het atropine kan worden uitgewasschen en dat men hetzelfde verschijnsel, pilocarpine-prikkel en atropine-remming, aan denzelfden darm eenige malen (tot 10 . toe) te voorschijn kan roepen, steeds met hetzelfde resultaat. De hoeveelheid pilocarpine, die wij gebruikten, was meestal vrij groot, 10 mgr. op 75 c.M³. Tyrode, de atropine-hoeveelheid zeer klein ca. 0,001 à 0,01 mgr. op 75 c.M³. Tyrode. Het gelukte wel om op deze wijze een verschil in werking te zien b.v. tusschen 0.001 en 0.0015 mgr. atropine, maar dat is nog niet voldoende, want de proeffout bedraagt op die wijze nog 50% [2]).
ad b. Verleden jaar heeft P. TRENDELENBURG [3]) een methode medegedeeld, waarmede aan den geïsoleerden cavia-darm de *peristaltische* bewegingen kunnen worden geregistreerd en die afwijkt van de tot nu toe gebruikelijke. Wanneer n.l. op de gewone wijze een stuk darm in physiologische vloeistof wordt gebracht en de bewegingen op de methode, zooals die boven voor den cavia-uterus is beschreven, worden opgeteekend, dan verkrijgt men in hoofdzaak een beeld van de slingerbewegingen (MAGNUS' Pendelbewegungen). TRENDELENBURG echter stulpt het éene eind van een stuk dunnen darm van een cavia over een omgebogen glazen buis en bevestigt het daar, het andere einde wordt toegebonden en aan een hefboom bevestigd. De omgebogen glazen buis wordt in een vat geplaatst, waarin zich een physiologische vloeistof bevindt. Het essentieele van de methode is, dat het stuk dunnendarm vanuit de glazen buis gevuld wordt met Ringersche vloeistof. Tot dit doel staat de buis in verband met een glazen reservoir, dat hooger en lager gesteld kan worden. Door dit open neer bewegen van het reservoir kan de druk geregeld worden, die in de vloeistof, welke zich in den darm bevindt, wordt onderhouden. TRENDELENBURG toonde nu aan, dat de darm bij lagen druk alleen slingerbewegingen uitvoert, die als zwakke uitslagen door den hefboom worden geregistreerd, maar wordt de druk verhoogd, dan zullen bij een bepaalden stand van het reservoir krachtige peristaltische golven in den darm optreden, die zichtbaar zijn aan den hefboom en ook nog, zoo noodig, afzonderlijk kunnen worden geregistreerd door het reservoir door middel van luchttransport met een piston-recorder te verbinden. Heeft men nu door voorproeven vastgesteld, dat de darm bij een bepaalden stand van het reservoir juist peristaltische bewegingen gaat maken, dan zal na toedienen van een kleine hoeveelheid atropine de peristaltiek eerst bij een hoogere drukwaarde beginnen. Men heeft hier dus het voordeel, dat de werking, die het atropine uitoefent, in getallen kan worden uitgedrukt en tevens dat het een werking is, die tot stand komt, zonder dat eerst een ander vergift behoeft te worden gegeven. Op twee wijzen kan men trachten deze werkwijze voor quantitatief onderzoek geschikt te maken. Men kan óf nagaan of bij verschillende

---

1) A. P. v. LIDTH DE JEUDE. Quantitatieve onderzoekingen over het antagonisme van sulfas atropini tegenover hydrochloras pilocarpini, salicylas physostigmini en hydrochloras muscarini (Grübler) op overlevende darmen van zoogdieren.
Acad. proefschr. Utrecht 1916.

2) In de laatste maanden is in een onderzoek, dat Mej. VAN DEN BROEKE en ik verrichtten gebleken, dat onder zeer bepaalde voorzorgen met deze methoden goede physiologische waardebepalingen van atropine en hyoscyamine kunnen worden verricht.

3) P. TRENDELENBURG. Physiologische und pharmakologische Versuche über die Dünndarmperistaltik. Arch. f. exp. Path. und Pharmak. Bd. 81. pag. 55. 1917.

darmstukken van hetzelfde dier de minimum druk, die noodig is, om peristaltiek te veroorzaken vóór en nà atropine-toediening gelijk is, óf men kan nagaan of de atropine-werking kan worden „uitgewasschen", zoodat dan daarna op denzelfden darm het onderzoek kan worden herhaald. Wellicht is op deze wijze een goede methode voor physiologische waardebepaling van atropine te vinden.

ad c. CUSHNY [1]) heeft de werking van atropine en hyoscyamine op verschillende dieren en op verschillende organen nauwkeurig bestudeerd en hij heeft daarbij — op blz. 3 zijn reeds een deel van zijn uitkomsten medegedeeld — ook *quantitatief* de werking van deze beide alcaloiden kunnen nagaan. Hij heeft daarbij vele methoden gebruikt. Voor een onderzoek naar de sterkte der belladonna-praeparaten zouden vooral die methoden in aanmerking komen, waarin als criterium der werking de invloed van atropine op de uiteinden der parasympathische zenuwen bij het warmbloedige dier wordt benut, omdat dit toch de werking is, waarvan in de kliniek voor therapeutische doeleinden wordt gebruik gemaakt.

In aanmerking komen

1. *Onderzoek op de pupil bij de kat.*

Dat atropine, wanneer het in de conjunctiva zak bij een kat wordt gebracht, nog in zeer geringe concentraties een pupilverwijding veroorzaakt, is bekend. Deze methode wordt (vergel. FÜHNER [2]) gebruikt om kleine hoeveelheden atropine (tot 1/200 mgr.) *qualitatief* aan te toonen. Voor *quantitatief* onderzoek is het beter, om het vergift onderhuidsch of in een ader in te spuiten en dan den invloed op de pupilreactie na te gaan. In CUSHNY's onderzoek bleek, dat men dit verschillende malen op achtereenvolgende dagen bij dezelfde kat kan herhalen, zonder dat gewenning optreedt. Het schijnt, dat men op deze wijze van twee vergiften (in CUSHNY's geval atropine en hyoscyamine) door ze afwisselend in te spuiten, de minimaal werkzame dosis kan bepalen en dus de verhouding der werkzaamheid van de twee vergiften kan vaststellen.

2. *Onderzoek op het hart bij de kat.*

Atropine en hyoscyamine verlammen de uiteinden van den vagus in het hart. Op twee wijzen kan men vaststellen of een ingespoten hoeveelheid atropine groot genoeg is geweest, om dit effect te weeg te brengen. In de eerste plaats zal na de inspuiting van een voldoend groote hoeveelheid de polsfrequentie stijgen en ten tweede zal de reflectorische polsverlangzaming (die opgewekt wordt door het dier een prop watten met ammoniak voor den neus te houden) door atropine worden opgeheven. CUSHNY geeft aan de laatste methode de voorkeur.

3. *Onderzoek op de speekselsecretie bij kat of hond.*

Wanneer bij een kat of hond een speekselfistel wordt aangelegd door de uitmonding van den ductus submaxillaris in de huid te hechten, kan de normale speekselvloed en die, welke wordt opgewekt door psychische of toxische (pilocarpine) prikkels, worden nagegaan.

Atropine en hyoscyamine remmen de speekselsecretie.

Met deze drie methoden onderzocht CUSHNY o.a. de verhouding in werkzaamheid van atropine en hyoscyamine en hij kreeg met alle drie methoden dezelfde uitkomst, het hyoscyamine werkte 2 maal sterker dan het atropine.

Vermoedelijk is met één dezer methoden of met een combinatie van meerdere een ijking van belladonna-praeparaten te verrichten. Daarbij krijgt men dan natuurlijk alleen een indruk over de

---

1) A. R. CUSHNY. Atropine and the hyoscyamines a study of the action of optical isomers.
Journ. of physiol. Vol. XXX, pag. 176. 1903.

2) H. FÜHNER. Nachweis und Bestimmung von Giften auf biologischem Wege. Berlin 1911.

periphere werking. Over de centrale werking van belladonna zal men zich op een andere wijze gegevens moeten verschaffen. Hiervoor zijn echter nog geen *quantitatieve* methoden bekend.

Geen der genoemde methoden zijn thans nog bruikbaar. Zij worden echter vermeld, omdat vermoedelijk op een der aangegeven wijzen de oplossing van het vraagstuk zal zijn te vinden en omdat het, naar ik meen, zijn nut heeft, om in gevallen, waarin een voldoende resultaat nog niet is bereikt, althans de mate van onze onkunde nauwkeurig te omschrijven. Het onderzoek — zoowel qualitatief als quantitatief — naar de werkzame bestanddeelen van extr. belladonnae verlangt onze volle belangstelling.

HOOFDSTUK IV

OPIUMPRAEPARATEN.

Dat een physiologische waardebepaling van opium zeer noodig is, is op blz. 5 voldoende toegelicht. Een bruikbare methode bestaat echter niet.

Het opium wordt in de therapie hoofdzakelijk gebruikt als stoppend middel bij darmaandoeningen. Men zou dus bij voorkeur deze stoppende werking als toets voor de werkzaamheid van een bepaald opiumpraeparaat willen nemen. Juist omdat, naar het schijnt, bij de stoppende werking van morphine, een sterke potentieering door de andere opium-alcaloiden wordt teweeggebracht en omdat deze potentieering bij andere morphinewerkingen kan ontbreken, zou te meer reden zijn, deze werkingen als toets voor een ijking van opiumpraeparaten te nemen.

Magnus [1]), Padtberg [2]), Hesse en Neukirch [3]) en Takahashi [4]) hebben door middel van de Röntgen methode de stoppende werking van morphine en opium bij dieren onderzocht. De eerste werkte op normale dieren. Padtberg, Hesse en Neukirch onderzochten vooral de stoppende werking van opiumalcaloiden op katten, waarbij te voren door het toedienen van coloquintenextract kunstmatig diarrhoeën waren opgewekt. Bij deze onderzoekingen bleek, dat quantitatief werk op deze wijze mogelijk is.

Het spreekt vanzelf, dat uit dit onderzoek niet licht een, voor practisch gebruik geschikte methode tot het ijken van opiumpraeparaten kan groeien, vooral omdat een groot aantal proefdieren en zeer veelvuldige Röntgen-doorlichtingen daarvoor

---

1) R. Magnus. Die stopfende Wirkung des Morphins II Mitt. Pflüg. Arch Bd. 122, pag. 210. 1908.

2) J. H. Padtberg. Uber die Stopfwirkung von Morphin und Opium bei Koloquintendurchfällen. Pflüg. Arch. Bd. 139, pag. 318. 1911.

3) Hesse und Neukirch. Versuche zur Ermittlung der stopfenden Bestandteile im Opium (Pantopon) Pflüg. Arch. Bd. 151, pag. 309. 1913.

4) M Takahashi. Quantitative experimentell-therapeutische Versuche zur Ermittlung der stopfenden Bestandteile im Opium. Pflüg. Arch. Bd. 159, p. 327. 1914.

noodig zouden zijn. Wel zou het mogelijk zijn, en wellicht de moeite loonen, om voor een enkele maal een onderzoek naar de werkzaamheid van een groote partij te doen en men zou dan door de beschreven werkwijze te volgen, althans het voordeel hebben, dat de werking die men als toets voor de werkzaamheid van opium neemt, zoo dicht mogelijk bij de therapeutische werking bij den mensch zich bevindt.

Geheel anders zou het zijn, indien men het bekende handelspraeparaat pantopon wilde ijken. Het pantopon bevat alle alcaloiden, die in opium voorkomen als zoutzure zouten. Het bevat 62,7% zoutzure-morphine en de overige alcaloiden komen er in die verhouding in voor, waarin ze in het opium aanwezig waren, waaruit het pantopon is bereid. Aangezien nu die verhouding voor opium niet constant is (vergel. blz. 6) zal dat voor pantopon ook niet het geval zijn. Het is dus niet ondenkbaar, dat men het noodig zou achten pantopon te standaardiseeren. In dat geval zou de boven beschreven methode, waarin de stoppende werking als toets wordt genomen, niet voldoende zijn, omdat pantopon zeer veelvuldig als vervangmiddel van morphine, dus als narcoticum, wordt gebruikt en voor dat gebruik gelden weer andere potentieeringsmogelijkheden. Wil men dus het pantopon ijken, dan moet vooral aan de pijnstillende werking van het praeparaat de aandacht worden besteed. De boven beschreven methode van Macht zou dus zeer goede diensten kunnen bewijzen, alleen men moet daarbij op menschen werken. Dat kan voor een enkele maal geschieden, maar een gewone laboratoriummethode voor practisch gebruik kan natuurlijk hieruit niet groeien.

Zooals boven reeds werd opgemerkt, een bruikbare methode tot het ijken van opiumpraeparaten bestaat nog niet. Wellicht kan, indien eerst de hier beschreven methode voor eenige praeparaten is benut, op grond daarvan een eenvoudiger methode worden uitgewerkt.

HOOFDSTUK V

CANABIS INDICA.

Canabis indica heeft een werking op het centraal zenuwstelsel, die in enkele opzichten met die van opium overeenkomt. Het wordt voor therapeutische doeleinden in ons land zoo goed als niet gebruikt ,in Engeland en Amerika echter wel. Het wordt daar echter niet, zooals bij ons het opium, als stoppend middel, maar als narcoticum gebruikt, dus meer in de gevallen, waarin wij morphine geven. De physiologische werking van canabis indica is uitvoerig beschreven door S. FRÄNKEL [1]).

De werkzame bestanddeelen kunnen niet chemisch worden bepaald. De Amerikaansche pharmacopee ed. IX geeft daarom aan een physiologische waardebepaling, die volledigheidshalve hier in het kort wordt vermeld.

Gebruik wordt gemaakt van een eigenaardige werking, die canabis indica volgens FRÄNKEL op honden heeft, het veroorzaakt bij deze dieren n.l. stoornissen in de coördinatie der willekeurige bewegingen. De symptomen, die het eerst op den voorgrond treden zijn : „slight swaying, when the animal is standing quietly, or in some ataxia when it runs about". Onderzocht wordt de minimum dosis van het fluidextract van een bepaald canabispraeparaat, die deze verschijnselen teweegbrengt en de werking hiervan wordt vergeleken met die van een standaardpraeparaat.

Tot dit doel worden telkens twee honden (goed gevoede, gezonde dieren minstens een jaar oud, bij voorkeur fox terriers) met wisselende hoeveelheden van de beide extracten ingespoten, totdat voor beide praeparaten de minimum werkzame dosis gevonden is. Tusschen twee opeenvolgende inspuitingen moeten minstens drie dagen verloopen.

De canabis wordt den dieren als fluidextract, verwerkt in pillen, per os toegediend.

Als standaardpraeparaat wordt een praeparaat beschouwd, waarvan 0.03 c.M³. per K.G. lichaamsgewicht van het dier werkzaam is.

1) S. FRÄNKEL. Chemie und Pharmakologie des Haschisch. SCHMIEDEBERGS Arch. 49, 266. 1903.

De methode maakt niet den indruk van zeer nauwkeurig te zijn, maar is vooral daarom nuttig omdat naar het schijnt canabispraeparaten op de markt voorkomen, die geheel onwerkzaam zijn, en dan is het voor den groothandelaar natuurlijk van groot belang, dat tenminste een grof quantitatieve methode bestaat.

Aconitine praeparaten.

De Amerikaansche Pharmacopee Ed. IX [1]) geeft een methode tot ijking van aconitine-praeparaten, die volledigheidshalve vermeld wordt.

Bij deze methode wordt het vergift in den vorm van het fluidoxtract, het extract of de tinctuur ingespoten bij caviae van 250 à 350 Gram. Bepaald wordt de kleinste dosis, die na 12 uur de caviae doodt.

Van een goed fluidextract moet 0,000 04 c.M^3., van een goed extract 0,00001 c.M^3., en van een goede tinctuur 0,0004 c.M^3. per Gram dier noodig zijn om een cavia te dooden.

---

1) U. S. Ph. Ed. IX, pag. 606, 1916.

HOOFDSTUK VI.

TINCTURA LOBELIAE INFLATAE.

De tinctura lobeliae wordt hier te lande betrekkelijk weinig gebruikt. Enkele malen wordt zij tegen asthma aangewend en zij maakt een bestanddeel uit van sommige der gebruikelijke asthma-middelen. Het werkzame bestanddeel is lobeline, een alcaloid dat in werking gedeeltelijk met nicotine overeenkomt en dat een zeer sterk vergift is. Wijl de tinctura lobeliae in de Ned. pharmacopee voorkomt en daarin geen waarborg voor de werkzaamheid wordt geëischt, wijl uit een onderzoek, dat DE LIND V. WIJNGAARDEN [1]) verrichtte bleek, dat de sterkte van lobelia-tincturen uit verschillende apotheken betrekkelijk sterk verschillen kan, en wijl tenslotte een goede chemische methode tot bepalen van het werkzame bestanddeel niet bestaat, daar is het gewettigd de physiologische waardebepaling van tinct.-lobeliae te bespreken.

Wegens de groote overeenkomst in werking tusschen lobeline en nicotine sprak het vanzelf dat DE LIND V. WIJNGAARDEN bij het zoeken naar een physiologische ijkings-methode voor tinct.-lobeliae eerst naging, of een bestaande nicotine-methode voor lobeline te gebruiken zou zijn. Dit bleek — indien slechts de nicotine-methode eenigszins gewijzigd werd — inderdaad mogelijk.

De bedoelde nicotine-methode was door mij gebruikt bij een onderzoek naar het nicotine-gehalte in den rook van verschillende sigaren [2]). Hierbij was gebleken, dat nicotine met voldoende nauwkeurigheid door middel van een physiologische methode kan worden bepaald, indien wordt gebruik gemaakt van de prikkelende werking, die kleine hoeveelheden nicotine, wanneer ze bij een dier in een ader worden ingespoten, op de sympathische ganglïen uitoefenen, waardoor o.a. vaatvernauwing optreedt en nijging tot een stijging van den bloedsdruk. Deze bloedsdrukstijging komt in vele gevallen niet tot uiting, omdat nicotine een remmenden invloed op het hart uitoefent, waardoor nijging tot bloedsdrukdaling optreedt. Deze laatste werking kan men uitschakelen, door van te voren atropine in te spuiten. Doet men dit, dan geeft in verreweg de meeste gevallen nicotine een zuivere bloedsdrukstijging. Het best

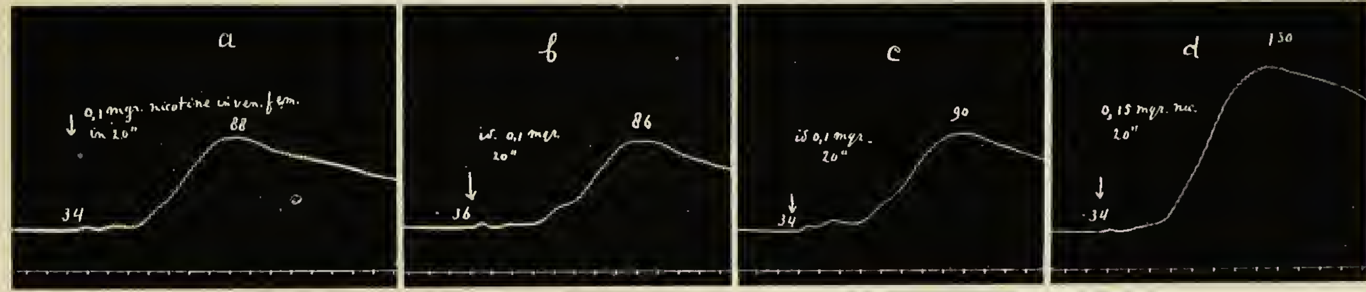
---

1). C. DE LIND V. WIJNGAARDEN, Physiologische waardebepaling van tinctura lobeliae inflatae. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1918, 1e helft, pag. 347.

2). W. STORM VAN LEEUWEN. Over het nicotine-gehalte in den rook van zware lichte en nicotinevrije sigaren. Geneesk. bladen 19e reeks N° 5, pag. 157.

Fig. 18.

Bloedsdruk. Gedecapiteerde kat na atropine-inspuiting.

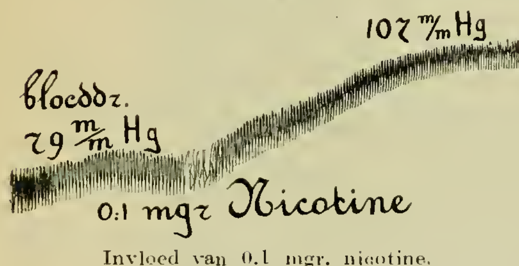


Invloed op den bloedsdruk van 0,1 mgr. nicotine (*a*, *b* en *c*) en van 0,15 mgr (*d*)

kan men dit waarnemen indien de nicotine-inspuitingen worden verricht bij een kat, die te voren is gedecapiteerd, waardoor dus invloeden op het vasomotorisch centrum worden uitgeschakeld, en tevens een narcose gedurende de proef overbodig wordt gemaakt. Worden nu bij een kat, die op deze wijze is voorbereid, achtereenvolgens verschillende inspuitingen gedaan met eenzelfde hoeveelheid nicotine, dan geven deze ook steeds eenzelfde bloedsdrukstijging, zooals uit fig. 18 blijkt. Men kan nu eerst bij een ijking van een nicotinehoudende vloeistof 2 inspuitingen doen met een nicotine-oplossing van bekende sterkte, daarna een inspuiting met de onbekende oplossing, om tenslotte door een inspuiting met de eerst-gebruikte oplossing aan te toonen, dat de gevoeligheid van het dier niet veranderd is. Deze methode gaf voor nicotine zeer goede resultaten.

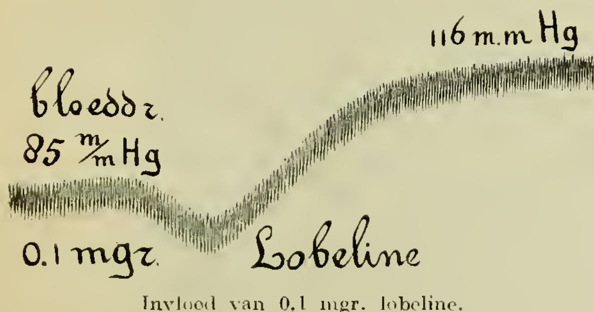
Fig. 19*a*.

Bloedsdruk. Gedecapiteerde kat na atropine inspuiting.



Invloed van 0.1 mgr. nicotine.

Fig. 19*b*.



Invloed van 0,1 mgr. lobeline.

Bij het onderzoek, dat DE LIND V. WIJNGAARDEN[1]) instelde naar de werkzaamheid van lobeline-tincturen uit verschillende apotheken, werd, wegens de groote overeenkomst in eigenschappen van lobeline en nicotine, getracht ook voor de lobelia-tincturen dezelfde methode als voor het nicotine te gebruiken. De bedoeling was dus, lobelia-tinctuur tegen lobeline te standaardiseeren. Dit bleek echter niet mogelijk, want werd eenige malen achtereen eenzelfde hoeveelheid lobeline bij een gedecapiteerde kat ingespoten, dan werden de daarop volgende bloedsdrukstijgingen — ook als van te voren atropine gegeven was — steeds kleiner. Ten einde deze moeilijkheid te ontgaan, werd geprobeerd of lobelia-tinctuur tegen nicotine gestandaardiseerd kon worden. En dit bleek nu inderdaad mogelijk, want wordt eerst eenige malen een bepaalde dosis nicotine ingespoten en dan eenzelfde hoeveelheid zuivere lobeline, dan geeft het lobeline een even hooge bloedsdrukstijging als het nicotine, zooals uit fig 19 a en b en uit tabel 6, die aan een mededeeling van DE LIND V WIJNGAARDEN is ontleend blijkt. Het was echter bij de ijking van de lobelia-tinctuur niet mogelijk, om telkens ter controle na de lobeline-injectie nog een nicotine-inspuiting te doen volgen, want deze nicotine-inspuiting ná het lobeline gaf regelmatig een veel hoogere bloedsdrukstijging dan dezelfde hoeveelheid nicotine vóór de lobeline-injectie. Het bleek, dat hierbij een geval van echte potentieering zich voordeed. Wij hebben over dit verschijn-

1) C. DE LIND VAN WIJNGAARDEN. Physiologische waardebepaling van tinctura lobeliae inflatae. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1918, 1e helft no. 6, pag. 347.

Tabel 6.

Vergelijking van de werking van 0,1 mgr. nicotine met die van 0,1 mgr. lobeline beide na inspuiting van atropine.

Proef No.	Stijging van den bloedsdruk na 0,1 mgr. nicotine.	Stijging van den bloedsdruk na 0,1 mgr. lobeline.
18	66 m.M. Hg.	54 m.M. Hg.
30	50 ,, ,,	56 ,, ,,
44	13 ,, ,,	19 ,, ,,
57	30 ,, ,,	31 ,, ,,
	gemiddeld **39,75**	gemiddeld **40**

sel ter anderer plaatse uitvoeriger mededeelingen gedaan [1]). Waar intusschen deze laatste controle-injectie van het nicotine *na* het lobeline niet strikt noodzakelijk was, kan de methode ook zonder deze als bruikbaar worden beschouwd. De gang van zaken is dus deze. Bij een gedecapiteerde kat worden, na atropine-inspuiting, eenige malen wisselende hoeveelheden nicotine ingespoten, b.v. 0,075 mg., 0,1 mg., 0,125 mg., 0,15 mg. en 0,175 mg. Daarna volgt nog een injectie met 0,1 mg. nicotine, om aan te toonen, dat de gevoeligheid van het dier niet veranderd is. Ten slotte wordt dan de onbekende lobeliatinctuur ingespoten en nagegaan, met welke dosis nicotine de bloedsdrukstijgende werking van die hoeveelheid lobeline overeenkomt. Op die wijze kan dus geschat worden, hoeveel lobeline de tinctuur bevat. Natuurlijk werd elke tinctuur niet bij één, maar bij een aantal dieren onderzocht. Bij dit onderzoek bleek, dat de sterkte van in 5 verschillende apotheken bestelde „tinctura lobeliae inflatae" sterk wisselde, zoodat de sterkste tinctuur 5 maal zoo sterk was als de zwakste. De waarden, die voor de verschillende tincturen gevonden waren, vindt men in onderstaande tabel 7, waarin voor elke tinctuur is opgegeven, met hoeveel mg. lobeline 1 c.M^3. der tinctuur overeenkomt.

Tabel 7.

Apotheek.	1 cm^3. tinctuur komt in werking overeen met
a	0,08 mg. lobeline.
b	0,08 ,, ,,
c	0,11 ,, ,,
d	0,275 ,, ,,
e	0,4 ,, ,,

Vermeld moet nog worden, dat de tinctuur niet als zoodanig ingespoten kan worden, daar zij blijkbaar stoffen bevat, vermoedelijk kaliumzouten, die onmiddellijk het hart tot stilstand brengen.

Om schadelijke bestanddeelen te verwijderen, werd de tinctuur ingedampt in

1) W. Storm van Leeuwen en C. de Lind van Wijngaarden. Over den invloed van lobeline op de bloedsdrukverhooging door nicotine. Kon. Akad. van Wetensch. Wis- en Natuurk. Afd. Deel XXVI, blz. 560. 1917.

vacuo, tot de oplossing troebel werd, doordat het alcoholgehalte sterk verminderde. Dan werd, door toevoeging van veel bicarbonas natricus, de oplossing sterk alkalisch gemaakt en daarna met aether geschud, waarbij het alcaloïde in den aether overgaat. Nadat in een scheitrechter de aether van zijn onderlaag is gescheiden, wordt hij opnieuw vermengd en geschud met een verdundo oplossing van HCl ; dan gaat het alcaloide als HCl-zout in deze laatste oplossing over en kan van den aether worden afgescheiden. Voor de inspuiting wordt dezo zure alcaloide-bevattende vloeistof op hetzelfde volumen teruggebracht als de oorspronkelijke tinctuur innam.

Bij de nicotine- en lobelinebepalingen moet er steeds voor gezorgd worden, dat

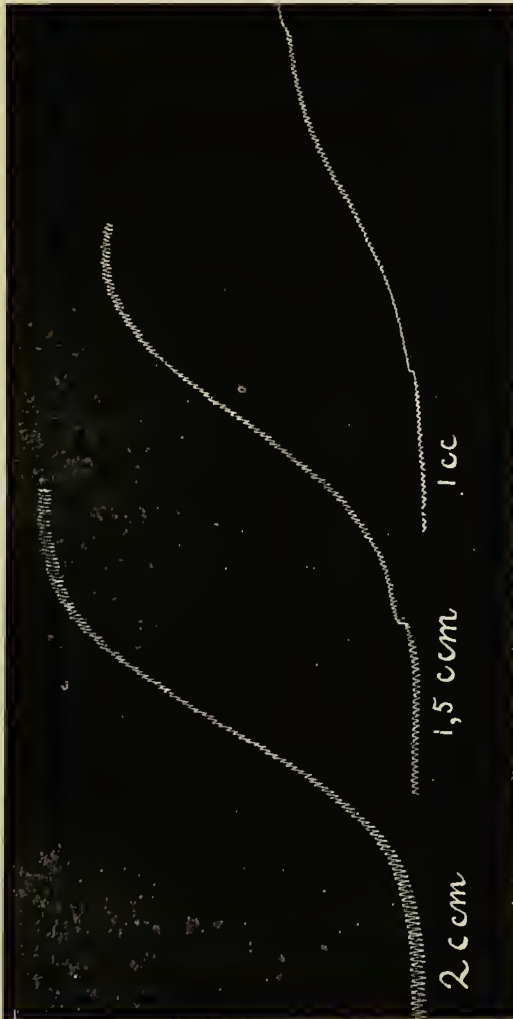
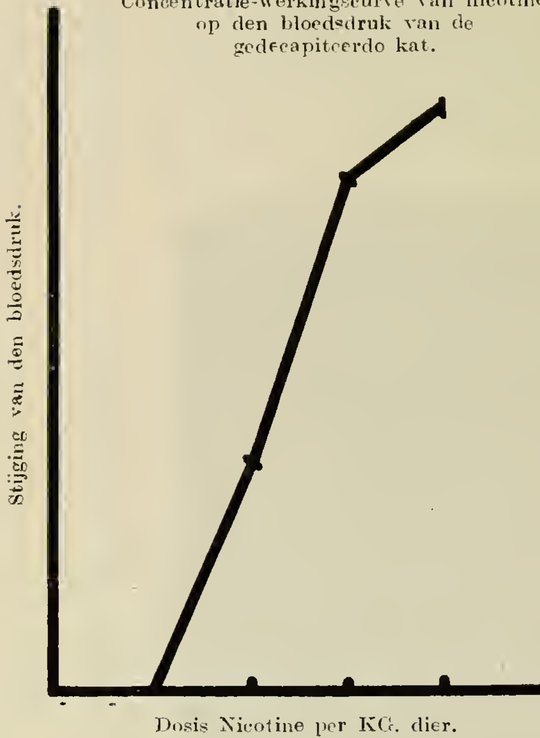


Fig. 20*a*.

Invloed van 2 c.M³., van 1,5 c.M³. en van 1 c.M³. eener oplossing van Nicotine op den bloedsdruk bij de gedecapiteerde kat. (na atropine-inspuiting).

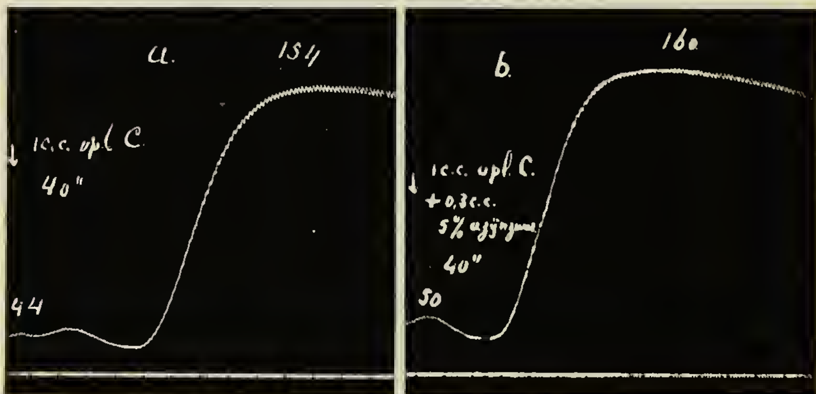
Fig. 20*b*.

Concentratie-werkingscurve van nicotine op den bloedsdruk van de gedecapiteerde kat.



men slechts kleine hoeveelheden van de vergiften inspuit, zoodat de bloedsdrukstijgingen niet te hoog zijn. De C-W curve van de nicotinewerking op den bloedsdruk heeft een verloop, dat met fig. 17 overeenkomt, zooals uit fig. 20*a* en *b* blijkt. In fig. 20*a* zijn de bloedsdruk curven weergegeven, zooals ze zijn opgenomen. Fig. 20*b* is uit de waarden van fig. 20*a* geconstrueerd. Men moet dus ook bij dit onderzoek in de middenzône der C-W curve blijven, ook al omdat na inspuiten van groote hoeveelheden nicotine te spoedig een toestand bereikt wordt, waarin de sympathisehe gangliën door het nieotine inplaats van geprikkeld, verlamd worden en dus geen bloedsdrukstijging meer optrecdt. De beste resultaten krijgt men met hoeveelheden van ca. 0.1 mgr. nicotine. De oplossing van nico-

Fig. 21



Bloedsdruk. Gedecapiteerde kat na atropine inspuiting.
a nicotine. *b* nicotine + azijnzuur.

tine, die men voor een dergelijk onderzoek in voorraad houdt, moet zwak zuur reageeren. Is zij alkalisch of zelfs maar neutraal, dan gaat de nicotinewerking ervan zeer snel achteruit. Uit voorzorg werden niet alleen de nicotine-oplossingen, maar ook de lobeline-oplossingen steeds in zure oplossing gehouden. Dat zelfs vrij groote verschillen in den zuurgraad na inspuitingen bij de kat geen verschil in invloed op den bloedsdruk geven, blijkt o.a. uit fig. 21 waar eerst 1 c.M^3. van een azijnzuurhoudende nicotine-oplossing is gegeven en daarna 1 c.M^3. van dezelfde oplossing + 0.3 c.M^3. 5% azijnzuur.

Tenslotte moet nog de aandacht erop worden gevestigd, dat de bloedsdrukstijging na een nicotine-inspuiting niet alleen afhankelijk is van de nicotine-hoeveelheid, die ingespoten wordt en van de concentratie, maar vooral ook van de snelheid, waarmede wordt geinjiceerd. Na een snelle injectie is de bloedsdrukstijging veel grooter dan na een langzame injectie met dezelfde hoeveelheid. Men moet dus bij dergelijke bepalingen alle inspuitingen even snel doen, bijv. steeds in 20- of in 40 sec. Natuurlijk mag de hoeveelheid vloeistof, die men inspuit, niet te veel verschillen, maar dit luistert niet heel nauw, men krijgt bijv. hetzelfde effect op den bloedsdruk als men 0.1 mgr. nicotine de éene maal in 0.5 c.M^3. en de andere maal in 2 c.M^3. vloeistof inspuit, mits de snelheid waarmede ingespoten wordt, gelijk blijft.

De ijking van lobelia-tinctuur kan volgens de hier beschreven methode met vrij groote nauwkeurigheid geschieden. Aangezien de bloedsdrukstijging die 0,1 mgr. nicotine geeft, zeer duidelijk verschilt van de stijging na 0,125 mgr. kan men aannemen, dat de fout, die met deze methode verkregen wordt, niet hooger zal zijn dan 20%, waarschijnlijk zelfs lager.

Hoewel de tinct.-lobeliae in de meeste streken van ons land zeer weinig gebruikt wordt, zal het m.i. toch gewenscht zijn, bij een nieuwe uitgave van de pharmacopee physiologische waardebepalingen ook voor de Herba lobeliae op te nemen en wel omdat het lobeline een sterk werkend vergift is, dat bovendien de werking van nicotine en wellicht ook van andere vergiften versterkt, zoodat de toediening van deze tinctuur gevaar kan opleveren, indien men niet van een constante werkzaamheid zeker is.

HOOFDSTUK VII.

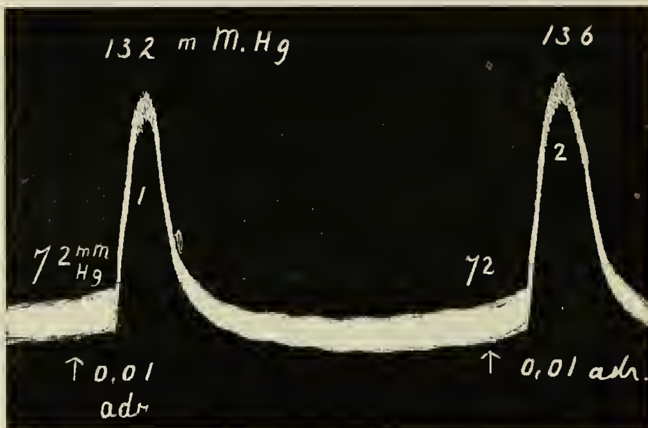
ORGAANPRAEPARATEN.

Adrenaline.

Onder de orgaan-praeparaten neemt adrenaline een zeer bijzondere plaats in, omdat het werkzame bestanddeel een chemisch bekende stof is en zelfs synthetisch wordt bereid. Een physiologische waardebepaling van adrenaline schijnt dan ook eigenlijk overbodig. Toch geeft de Amerikaansche pharmacopee Ed. IX een voorschrift voor het geval de werkzaamheid van bijniersubstantie moet worden bepaald. De methode komt in hoofdzaak hierop neer.

Fig. 22.

Bloedsdruk. Gedecapiteerde kat.



Invloed van twee opeenvolgende inspuitingen met 0,01 mgr. adrenaline.

Een hond wordt in diepe narcose gebracht en eenige milligrammen atropine worden ingespoten om de prikkelbaarheid der vagi op te heffen. Daarna wordt een- of meermalen een kleine hoeveelheid laevo-methylamino-aethanol-catechol (d.i. synthetische adrenaline) ingespoten en het effect hiervan op den bloedsdruk geregistreerd. Dan wordt de hoeveelheid bijnier-substantie gezocht, die eenzelfde bloedsdrukstijging geeft. Voorgeschreven is, dat, om de bijniersubstantie als „physiologically assayed and standardised according to the U. S. P. IX" te mogen in den handel brengen, 1 g. suprarenalum siccum — wat bloedsdrukstijgende werking betreft — aequivalent moet zijn aan 10 mg. laevo-methylamino-aethanol-catechol.

Het principe van deze methode komt dus hierop neer, dat, wanneer bij een dier eenige malen achtereen eenzelfde hoeveelheid adrenaline wordt ingespoten, de bloedsdrukstijging, die hiervan het gevolg is, ook ongeveer dezelfde is. Deze bloedsdrukstijging door adrenaline is een gevolg van een vernauwing der kleinste bloedvaten en van een positieven invloed van het adrenaline op het hart. Bovendien oefent het adrenaline nog een centralen invloed uit. Om invloeden vanuit het verlengde merg uit te schakelen en dus de verhoudingen wat te vereenvoudigen, kan men met vrucht gebruik maken van gedecapiteerde dieren.

Een voorbeeld van de bloedsdrukstijging na 2 opeenvolgende adrenaline-injecties geeft fig. 22.

Het verloop van de concentratie-werkingscurve komt — vergel. fig. 4 en 5 — met dat van fig. 17 overeen, men moet dus ook bij deze ijking zorgen in de middenzône b—c der C–W curve te blijven.

Omtrent de techniek van de bloedsdruk-methode in het algemeen kan hier nog een enkele aanwijzing worden gegeven.

Techniek van de bloedsdruk-methode.

Het decapiteeren of decerebreeren van een dier wordt later beschreven. Bij het registreeren van den bloedsdruk maken wij als regel van een gewonen kwikmanometer gebruik. Men moet als vullingsvloeistof voor de caoutchouc slang tusschen manometer en arterie *niet* magnesiumsulfaat nemen, omdat dat een te schadelijke werking op het hart van de kat uitoefent (bij konijnen en honden kan men met voordeel magnesiumsulfaat nemen). Dat het effect op den bloedsdruk, behalve van de hoeveelheid van het ingespoten vergift, vooral ook afhankelijk is van de snelheid waarmede wordt geinjiceerd, is boven bij de nicotine-ijking reeds vermeld. Dat groote verschillen in de hoeveelheid vloeistof, waarin een bepaald vergift wordt opgelost, van invloed zijn, is ook reeds ter sprake gebracht.

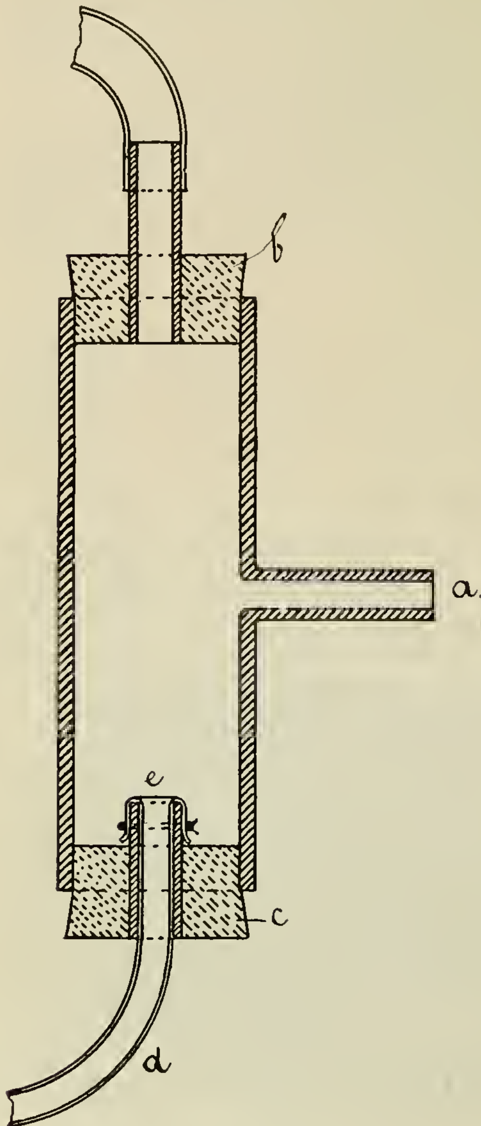
Bij langdurende proeven moet erom gedacht worden, dat de temperatuur van het gedecapiteerde of gedecerebreerde dier niet te veel daalt. Voor nicotine vond ik n.l. [1]), dat bij daling der temperatuur de bloedsdrukstijging die door een bepaalde hoeveelheid nicotine wordt veroorzaakt, afneemt. De invloed van de temperatuur is echter niet heel groot. Het is voldoende als de rectaal temperatuur van het dier tusschen 35°—37° schommelt. Men kan het dier op temperatuur houden door gedurende de proef de operatietafel te verwarmen of door onder het dier een flesch met warm water te schuiven. Wil men grootere nauwkeurigheid, dan kan men door den oesophagus 2 katheters in de maag van het dier brengen en door den éénen katheter warm water invoeren, dat door den anderen katheter afvloeit. Het toevloeiend water houdt men op constante temperatuur door een gasvlam, waarvan de gastoevoer geregeld wordt vanuit een thermo-regulator, die in het rectum van het dier wordt ingebracht en die op 37° is ingesteld. Men kan ook een in het rectum ingevoerde thermo-regulator van bizonder model met een electrische gloeilamp verbinden, die boven of onder het dier wordt geplaatst en die vanuit den thermo-regulator zoo geregeld wordt, dat de tem-

---

1) W. Storm v. Leeuwen. Over het nicotine-gehalte in den rook van zware, lichte en nicotinevrije sigaren, Geneesk. bladen 19e reeks, No. 5, pag. 157.

peratuur van het dier constant blijft. Beide methoden zijn o.a. in het Ned. Tijdschr. v. geneesk. beschreven [1]).

Fig. 23.



Toestel van Mac. Craken en Werness tot voorkoming van stolling bij bloedsdrukproeven.

Wanneer een bloedsdrukexperiment eenigen tijd duurt, heeft men bij de gebruikelijke manometer-methoden herhaaldelijk te kampen met stolling van het bloed in de glazen canule, die in de arterie is ingevoerd. Vooral als sterke bloedsdrukstijgingen voorkomen en meer nog als (vergelijk thyreoidine-methoden) sterke bloedsdrukdalingen optreden, kan deze stolling buitengewoon onaangenaam zijn. Mac Craken en Werness [2]) hebben nu een zeer eenvoudige canule aangegeven, waardoor de stolling wel niet geheel voorkomen wordt, maar toch zeer beperkt.

Het principe is zeer vernuftig gevonden. Bij de tot nu toe gebruikelijke methode wordt het nauwe deel van de canule in de arterie ingevoerd, zoodat het bloed onmiddellijk in aanraking komt met den glazen wand van de canule.

Mac Craken en Werness voeren echter de arterie in de canule in, zoodat het bloed zoolang mogelijk met den wand der arterie in aanraking is. Het toestelletje is afgebeeld in fig. 23. Het bestaat uit een 1,5 c.M. wijde glazen buis met een zijstuk *a*, dat met den manometer in verband wordt gebracht. De glazen buis is aan beide zijden gesloten met een caoutchouc stop. De bovenste

---

1) W. Storm van Leeuwen. Twee methoden om de lichaamstemperatuur van gedecerebreerde of gedecapiteerde dieren langen tijd standvastig te gouden. Ned. Tijdschr. v. geneesk. 1916, 1e Helft, p. 1174.

2) W. Mac Craken and I. Werness. A device for overcoming clotting during direct blood pressure experiments. Journ. pharm. and exp. Therap. Vol. IX, pag. 305, 1917.

stop *b* is doorboord en laat een glazen buis door waarop een stukje caoutchouc slang is geplaatst, dat met een klem wordt gesloten. De onderste kurk *c* laat een metalen buisje *d* door, dat 2 à 3 m.M. wijd is. Om het toestelletje te gebruiken, wordt eerst de art. carotis van de kat over een groote lengte vrij-gepraepareerd, dan dubbel afgebonden met een zeer dunne draad en tusschen de beide ligaturen doorsneden. Het vrije eind van het distale deel der arterie wordt nu door het metalen buisje *d* getrokken en wanneer het er geheel door is, wordt de arterie voorloopig onder het toestel afgeklemd; dan wordt van het vrije eind, dat bij *e* uitsteekt, een stukje afgeknipt, zoodat de ligatuur wegvalt en nu wordt met twee fijne pincetten de arterie over den rand van het metalen buisje heengestulpt. Is dit gelukt, dan wordt het omgeslagen eind met een fijne draad vastgebonden in een zeer kleine richel in de metalen buis. Nu wordt de kurk *c* in de buis gebracht en het geheele toestelletje gevuld met een half-verzadigde Na-sulfaatoplossing; de klem bij *b* wordt even geopend om lucht te laten ontsnappen; in den manometer wordt de gewenschte overdruk gemaakt en de klem op de arterie kan worden verwijderd. Het toestel moet dan in een statief worden gefixeerd en meestal kan men op deze wijze geruimen tijd werken, voordat stolling optreedt. Gebeurt dit, dan is het stolsel natuurlijk zeer gemakkelijk te verwijderen, door even de kurk *c* af te nemen (nadat de arterie weer tijdelijk is afgeklemd) en het apparaat met Na-sulfaat schoon te spoelen. Het voordeel van deze methode is, dat het bloed met den arterie-wand in aanraking is, totdat het ineens in de zeer wijde glazen buis terecht komt. Wanneer een klein stolsel ontstaat, zal dit niet aanstonds de canule verstoppen maar zal het naast het uitstekende deel van *e* neerzakken. Dit is vooral een voordeel, indien men nauwkeurig de mate van bloedsdrukdaling wil nagaan, die men bijv. door vagusprikkeling verkrijgt (vergel. blz. 104). Bij de tot nu toe gebruikte glazen canulen, die trechtervormig toeliepen, was men vrij zeker dat, indien ook maar het geringste stolsel in de canule aanwezig was, dit bij een bloedsdrukdaling in het nauwste gedeelte van de canule zou worden gezogen en deze daar zou verstoppen. Men was dus nooit zeker, of een bloedsdrukdaling wel geheel geregistreerd werd en of ze niet halverwege onderbroken werd door een klein stolsel.

In hoeverre het noodig is, inderdaad ijkingen van de adrenalinepraeparaten, die door de verschillende firma's in den handel worden gebracht, te verrichten, met andere woorden, na te gaan, of 1 mgr. adrenaline van de éene firma dezelfde werking heeft als 1 mgr. van een andere firma, is mij niet bekend. Nader onderzoek zal dit nog uit moeten maken [1]).

De hier beschreven standaardisatiemethode is zeer betrouwbaar en de techniek is eenvoudig. Waar ten slotte de bloedsdrukstijging in hoofdzaak veroorzaakt wordt door vaatcontractie en dit ook de werking van adrenaline is, die het meest in de geneeskunst gebruikt wordt, is de methode ook wat dit betreft, rationeel.

De bloedsdruk-methode geeft nauwkeurige resultaten en is voor het ijken van bijnierpraeparaten zeer voldoende. Wil men voor andere doeleinden zeer kleine hoeveelheden adrenaline quantitatief bepalen, dan moet men andere methoden benutten, (methode van CANNON en LA PAZ en van LAEWEN—TRENDELENBURG) die echter buiten het kader van dit boek vallen.

Er is nog een geval, waarin de bloedsdrukmethode niet met vrucht

---

1) Intusschen is gebleken, (vergel. W. STORM VAN LEEUWEN en M. VAN DER MADE. Over het verschil in werkzaamheid van adrenaline praeparaten van verschillende herkomst Ned. Tijdsch. v. geneesk. 1918, 2e helft pag. 1961) dat inderdaad physiologische waardebepalingen van adrenaline-praeparaten nuttig kunnen zijn.

kan worden aangewend d.i. wanneer men het adrenaline-gehalte van één der moderne asthma-middelen zou willen onderzoeken, die behalve adrenaline ook hypophysine bevatten. Dit laatste veroorzaakt evenals adrenaline een bloedsdrukstijging en men kan dus niet weten, welk deel van de bloedsdrukstijging door het adrenaline en welk deel door het pituitrine wordt veroorzaakt.

***

Behalve van de bijnierpraeparaten zijn van alle andere z.g. orgaan-praeparaten de werkzame bestanddeelen niet bekend. Bij de doseering van dergelijke praeparaten moet men zich derhalve regelen naar de hoeveelheid orgaansubstantie, die per tablet van die stof aanwezig is. Het spreekt vanzelf, dat dit een zeer onbetrouwbare maatstaf is, omdat een gram van het gedroogde orgaan van het éene dier natuurlijk niet dezelfde hoeveelheid werkzame stof bevat, als een gram van het orgaan van een ander dier. Deze verschillen kan men natuurlijk nivelleeren door groote hoeveelheden orgaansubstantie te nemen, zoodat men gedurende geruimen tijd een constant praeparaat heeft, maar indien verschillende fabrikanten dit doen, is de uitkomst zeer verschillend. Ter illustratie hiervan moge tabel 8 dienen, waarin voor een aantal thyreoidinepraeparaten van verschillende herkomst is opgegeven in welke mate zij volgens de proeven van ROMEIS [1]) invloed uitoefen op den groei van kikvorschlarven.

Tabel 8.

Verfüttertes Präparat.	Summe der in Versuchen erzielten täglichen absolut. Abnahme.
Jodothyrin von Bayer	2.970
Thyreoideatabletten Merck	2.518
Opothyreoidin Poehl	1.940
Thyreoideatabletten von Burroughs	1.289
Aiodin Hoffmann-LaRoche	0.901
Degrasin Dr. Freund und Dr. Redlich	0.810
Thyraden Knoll & Co.	0.737
Thyreoideatabletten Hofapotheke Dresden	0.507
Thyreoideatabletten Engelhardt	0.371
Thyreoideatabletten der Kurprinzenapoth. Leipzig	+ 0.364
Thyreoideatabletten von Struve, arsenhaltig	+ 0.460
Thyreoideatabletten von Struve	+ 0.625

1) B. ROMEIS. Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung innersekretorischer Organe.
Zeitschr. f. d. ges. exp. Medic. Bd. IV, pag. 403. 1916.

De verschillen, die hierin bestaan, zijn buitengemeen groot en bewijzen de noodzakelijkheid van een physiologische methode. Helaas bestaat een goede physiologische methode eigenlijk alleen voor hypophysis-praeparaten. Voor de thyreoidine-praeparaten zijn eenige methoden in bewerking, die hieronder besproken zullen worden, omdat daaruit wellicht een goede methode groeien kan.

HYPOPHYSIS-PRAEPARATEN.

Algemeene beschouwingen.

De ijking van deze praeparaten kan daarom met vrucht ter hand genomen worden, omdat de hierin voorkomende werkzame bestanddeelen een zeer evidente, gemakkelijk in cijfers uit te drukken, werking op het dierlijk organisme uitoefenen. De kennis omtrent de werking van hypophysis-extracten dankt men hoofdzakelijk aan SCHÄFER [1]), die uitvoerige onderzoekingen hieromtrent heeft verricht. Tezamen met OLIVER vond hij bloedsdrukstijgende werking van hypophysis-extracten en tezamen met MAGNUS eenige jaren later den invloed op de niersecretie [2]), terwijl DALE [3]) in 1906 een sterken invloed van deze extracten op den uterus aantoonde, wat later door v. FRANKL-HOCHWART en FRÖHLICH [4]) werd bevestigd. BLAIR BELL vond later nog een invloed op de peristaltiek van den darm en OTT en SCOTT een invloed op de galsecretie. De invloed op de melksecretie werd door SCHÄFER en MACKENZIE gevonden.

Wanneer in het bovenstaande is gesproken van hypophysis-extract dan worden bedoeld extracten van de achterkwab van dit orgaan. Van het werkzame bestanddeel is de chemische samenstelling nog niet bekend, er heerscht zelfs nog geen eenstemmigheid over de vraag, of al de genoemde pharmacologische eigenschappen van het extract aan de werking van één enkele chemische stof moeten worden toegeschreven.

SCHÄFER en HERRING [5]) en ENGELAND und KUTSCHER [6]) stonden op dit laatste standpunt. DALE [7]) laat theoretisch de mogelijkheid, dat in het extract 2 werkzame bestanddeelen voorkomen open, maar hij merkt op „the point of practical importance

1) G. OLIVER en E. SCHÄFER. Effects of glandular extracts. Journ of physiol. vol. 18, pag. 277. 1895.

2) R. MAGNUS en E. SCHÄFER. Pituitary extracts on the kidney. Journ. of physiol. vol. 27. Proc. phys. soc. pag IX 1901.

3) Zie *Biedl.* Innere Sekretion 2e Teil, pag. 144.

4) L. v. FRANKL-HOCHWART und A. FRÖHLICH. Zur Kenntnis der Wirkung des Hypophysins [Pituitrins, Parke Davis en Co.] auf das sympathische und autonome Nervensystem.

5) SCHÄFER and HERRING. Phil. Trans. 1906. B.

6) R. ENGELAND und FR. KUTSCHER. Ueber einige physiologisch wichtige Substanzen. Zeitsch. f. Biol. 57, pag. 527. 1912.

7) DALE. Journ. of pharm. and exp. therap. Vol. IV, pag. 75. 1912.

for purpose of standardisation is, that in the ordinary extract the different types of activity seem to run strictly parallel. That is to say, we have never found an extract which was inferior in pressor action and had not a like inferiority as a diuretic and an uterine stimulant". Hierbij moet niet worden vergeten, dat DALE onderzocht extracten die door hem — natuurlijk steeds op dezelfde wijze — uit de achterkwab van de hypophysis werden bereid. Bij een onderzoek naar de pharmacologische werking van verschillende handelspraeparaten, die de werkzame bestanddeelen van de achterkwab der hypophysis zouden bevatten bleek mij, dat die werking aanzienlijk verschillen kan, maar dit is hoogstwaarschijnlijk toe te schrijven aan verschil in de bereiding der praeparaten, zoodat mijn ervaring niet met DALE's opvatting in strijd behoeft te zijn.

FÜHNER [1]), die sedert 1912 een aantal onderzoekingen over de werkzame bestanddeelen van de hypophysis heeft verricht, staat op het standpunt, dat de achterkwab der hypophyse niet minder dan vier werkzame en daarnaast nog vier niet- of minder werkzame bestanddeelen bevat. Hij geeft van deze stoffen een aantal chemische kenmerken op, de constitutie of zelfs de empirische formule ervan is echter nog niet bekend. De pharmacologische werking is door FÜHNER nauwkeurig onderzocht en deze is voor de vier werkzame stoffen niet geheel dezelfde.

Het mengsel der vier werkzame stoffen wordt onder den naam „hypophysine" door de Höchster Farbwerke in den handel gebracht. Dit hypophysine geeft, wanneer het bij een met urethaan genarcotiseerd konijn wordt ingespoten, als regel een bloedsdrukstijging, daarna een bloedsdrukdaling, die dan weer door een stijging gevolgd wordt. Behalve dit, oefent het hypophysine ook een sterke werking uit op andere organen, op ademhaling, op den uterus enz. maar de werking op den bloedsdruk wordt hier in het bijzonder besproken, omdat daaromtrent geen overeenstemming bestaat tusschen FÜHNER en anderen (o.a. POPIELSKI) en juist deze werking op den bloedsdruk bij kan dragen tot het karakteriseeren der verschillende hypophysis-bestanddeelen.

POPIELSKI [2]) heeft op FÜHNER's mededeelingen kritiek uitgeoefend, die grootendeels door FÜHNER is weerlegd. Deze zaken kunnen hier thans niet besproken worden. Een van de punten uit POPIELSKI's kritiek echter is voor de onderhavige kwestie van belang. POPIELSKI heeft n.l. betoogd, dat de oudere hypophysis-praeparaten (pituitrine bijv.) bloedsdrukstijging gaven, terwijl FÜHNER's hypophysine ook bloedsdrukdaling gaf. FÜHNER bestrijdt dit en houdt vol, dat pituitrine dezelfde werking heeft op den bloedsdruk als hypophysine. Want KLOTZ [3]) en PANKOW [4]) hadden op het konijn met pituitrine evenzeer een werking op den bloedsdruk gekregen, die typisch is voor hypophysine. FÜHNER meent dat POPIELSKI's fout schuilt in de omstandigheid, dat POPIELSKI op gedecerebreerde honden heeft gewerkt, waarbij — wegens den lagen bloedsdruk, die deze dieren reeds hebben — een bloedsdrukstijging gemakkelijk is te verkrijgen. Op deze wijze is de zaak echter slechts ten halve verklaard. Want in

---

1) H. FÜHNER. Das Pituitrin und seine wirksamen Bestandteile. Münch. Med. Wochenschr. 1912. No. 16.

H. FÜHNER. Uber die isolierten wirksamen Substanzen der Hypophyse. Deutsch. Med. Wochenschr. 1913. No. 11, pag. 491.

H. FÜHNER. Pharmakologische Untersuchungen über die wirksamen Bestandteile der Hypophyse. Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. Bd. I, pag. 397. 1913.

H. FÜHNER. Die Hypophyse und irhe wirksamen Bestandteile. Berl. Klin. Wochenschr. 1914. No. 6.

H. FÜHNER. Pharmakologische Untersuchungen über die Wirkung des Hypophysins. Biochem. Zeischr. Bd. 76, pag. 232. 1916.

2) L. POPIELSKI. Hypophysis und ihre Präparate in Verbindung mit ihren wirksamen Substanzen. Berl. Klin. Wochenschr. 1913, pag. 1156.

2) R. KLOTZ. Experimentelle Studien über die blutdrucksteigonde Wirkung des Pituitrins (hypophysenextract) Arch. f. exp. Path. und Pharm. Bd. 65, pag. 353. 1911.

3) O. PANKOW. Uber Wirkungen des „Pituitrin". Parke Davis en Co. auf Kreisauf und Atmung. Pflüg. Arch. Bd. 147, pag. 89. 1912.

mijn onderzoekingen op gedecerebreerde katten bleek duidelijk, dat — in overeenstemming met POPIELSKI — pituitrine een bloedsdrukstijging gaf, *maar hypophysine gaf op de gedecerebreerde kat een stijging, gevolgd door een daling.* POPIELSKI's opvatting, dat pituitrine en hypophysine niet identiek zijn, is dus wel degelijk juist. Dit sluit overigens in het geheel niet in, dat POPIELSKI's geheele kritiek op FÜHNER's werk als juist moet worden beschouwd.

Het eigenaardige geval doet zich dus voor, dat op het genarcotiseerde konijn de verschillen tusschen pituitrine en hypophysine blijkens de onderzoekingen van FÜHNER, KLOTZ en PANKOW *niet* en op de gedecerebreerde kat of hond of op de gedecapiteerde kat *wel* kunnen worden aangetoond. Dat ook tusschen pituitrine en pituglandol dezelfde verschillen in werking bestaan, is op blz. 18 reeds medegedeeld. GUGGENHEIM [1]) onderzocht de werking van eenige hypophysisextracten op den bloedsdruk van het konijn en vond daarbij dat de werking van *pituglandol* (Hoffmann-La Roche en Co.) bij verschillende konijnen zeer verschillend zijn kan. Bij het éene konijn vond hij een werking, zooals FÜHNER die voor hypophysine beschrijft, bij een ander dier kreeg hij alleen de bloedsdrukdaling, bij een derde alleen de stijging, bij nog weer een ander dier in het geheel geen werking op den bloedsdruk.

Ten slotte kan nog medegedeeld worden, dat ik bij een in Holland vervaardigd hypophysispraeparaat een werking op de gedecerebreerde kat vond, die met die van Hypophysine overeenkomt.

Ik meen, op grond van de hier medegedeelde onderzoekingen van anderen en van mijzelf, dat het zeer wel mogelijk is, dat het extract, dat DALE in handen heeft gehad en eveneens pituitrine één werkzame stof bevatten, maar dat ongetwijfeld FÜHNER gelijk heeft, wanneer hij vermeent. dat zijn „*Hypophysin*" uit meerdere werkzame stoffen bestaat en hetzelfde geldt m.i. voor pituglandol.

GUGGENHEIM [1]) stond in 1913 nog op het standpunt, dat het hypophysenextract uit meer dan een stof bestaat. In 1914 deelt hij echter mede, [2]) dat de specifieke werkingen der hypophysisextracten door een enkele stof worden teweeggebracht.

Men moet naar ik meen FÜHNER [3]) gelijk geven, wanneer hij betoogt, dat GUGGENHEIM voor deze laatste opvatting niet voldoende bewijzen bijbrengt.

Het komt mij voor, dat één ding zeker is, n.l. dat de verschillende in den handel voorkomende hypophysispraeparaten niet identiek zijn. Uitvoerig onderzoek zal noodig zijn om uit te maken, aan welk praeparaat de voorkeur moet worden gegeven. De kliniek zal hierbij in de eerste plaats haar oordeel moeten geven.

Voor het ijken van hypophysis-praeparaten komen in hoofdzaak twee methoden in aanmerking n.l. een, waarbij op den overlevenden uterus wordt gewerkt; een waarbij de invloed op den bloedsdruk wordt bestudeerd. Beide methoden zullen besproken worden.

De overlevende-uterus-methode.

De techniek van deze methode komt geheel overeen met de voor de ijking van secale-praeparaten beschrevene. DALE ijkt het pituitrine-praeparaat tegen een door hem bereid standaard-pituitrine- extract. Ik beschikte niet over een dergelijk standaard-extract en gebruikte β-imidazolylaethylamine (histamine) als vergelijkingsmiddel en kreeg daarmede goede uitkomsten evenals blijkbaar ROTH [4])

Ook probeerde ik (daar β-i moeilijk te krijgen is) het pituitrine tegen *pilocarpine* op den overlevenden cavia-uterus te standaardiseeren. Dat gaf geen goede uitkomsten.

---

1) M. GUGGENHEIM. Beitrag zur Kenntnis der Wirkung von Hypophysenextrakten (Pituglandol). Mediz. Klinik. 1913 No. 19.

2) M. GUGGENHEIM. Beitrag zur Kenntnis des wirksamen Princips der Hypophyse Bioch. Zeitschr. Bd. 65, pag. 189. 1914.

3) Bioch. Zeitschr. l. c.

4) GEORGE D. ROTH. A standard for the determination of the strength of Pituitaryextracts. Journ. pharm. and exp. therap. Vol. V, pag. 559, 1914.

Of anders pituitrine-praeparaten, het hypophysine van Höchst, het pituglandol van Hoffmann—La Roche en een in Holland vervaardigd hypophysenextract eveneens goed tegen β-i op den overlevenden uterus kunnen worden geijkt, kan ik niet uitmaken daar ik thans niet over voldoende β-i beschik, om dat te onderzoeken. Tegen pilocarpine kan men ze niet op den overlevenden uterus ijken. Vooral ook heeft men daarbij het bezwaar, dat hypophysine de gevoeligheid van den uterus voor pilocarpine verandert. Indien men n.l. een bepaalde dosis pilocarpine op den uterus laat inwerken en dit vergift daarna uitwascht, vervolgens een hypophysis-praeparaat geeft en dit eveneens uitwascht en tenslotte weer de oorspronkelijke hoeveelheid pilocarpine toedient, dan heeft deze laatste dosis pilocarpine als regel een veel sterkeren invloed dan de eerste, zonder dat hierbij bepaalde quantitatieve verhoudingen zijn vast te leggen. Dit is dus een geval van z.g. „potentieering" en het onderzoek wordt hierdoor zeer bemoeilijkt. Ook zonder dat echter is het ijken van hypophysis-praeparaten tegen *pilocarpine* op den uterus niet mogelijk.

De bloedsdruk-methode.

Ook deze methode behoeft niet meer uitvoerig te worden beschreven, daar zij in principe overeenkomt met de adrenaline-ijking. Een voorwaarde, waaraan moet worden voldaan om in het algemeen een vergift met de bloedsdruk-methode te kunnen ijken, is, dat opeenvolgende inspuitingen met eenzelfde hoeveelheid van het vergift eenzelfde effect op den bloedsdruk uitoefenen. Dale had in dit opzicht met zijn hypophysisextracten geen zeer goede uitkomsten; hij geeft aan, dat bij opeenvolgend einspuitingen meestal de eerste een grootere stijging gaven, dan de latere. Na eenige injecties krijgt men echter als regel constante bloedsdrukstijgingen en kan de ijking zoo noodig gedaan worden.

De invloed van hypophysis-praeparaten op den bloedsdruk is herhaaldelijk onderwerp van onderzoekingen geweest. Oliver en Schäfer vonden een sterke bloedsdrukstijging na injectie van hypophysisextracten. Howell [1]) toonde later aan, dat na injectie van middelmatige of groote dosen een daarop volgende injectie *niet weer* hetzelfde effect heeft, maar een geringere of in het geheel geen stijging meer te voorschijn roept. In aansluiting aan dit onderzoek vonden Schäfer en Vincent dat zelfs een volgende injectie een daling van den bloedsdruk veroorzaken kan. Zij konden stof isoleeren, die deze daling veroorzaakt. Dale heeft blijkbaar kleine dosen gebruikt, zoodat de bloedsdrukstijgende werking na herhaalde injecties niet geheel verdwijnt.

Dale meent, dat de uterus-methode nauwkeuriger dan de bloedsdrukmethode is. Dat komt met mijn resultaten, althans wat betreft het pituitrine, overeen, hoewel ook de bloedsdrukmethode bij pituitrine (Parke-Davis) mij vrij goede resultaten gaf, indien zij eenigszins werd gewijzigd. Ik heb n.l. in latere onderzoekingen niet pituitrine tegen pituitrine, maar pituitrine tegen adrenaline geijkt. Een van de redenen hiertoe was deze, dat ik niet zeker was een standaard pituitrine-praeparaat op constante waarde te kunnen houden, terwijl wel chemisch zuivere adrenaline ter beschikking was. Bij de ijking van pituitrine tegen adrenaline heeft men — indien men op konijnen werkt — de moeilijkheid, dat pituitrine de adrenalinewerking potentieert, d.w.z. adrenaline na pituitrine geeft een grooter effect dan adrenaline voordat pituitrine gegeven werd. Dit verschijnsel bestaat bij de gedecapiteerde kat niet [2]). Men kan daar dus op

---

1) Howell. Journ. of exp. medic. Vol 3. 1898.

2) H. Börner. Ursache der Steigerung der Adrenalinwirkung auf den Kaninchen-blutdruck durch Hypophysenextrakte.
Arch. f. exp. Path. en Pharm. Bd. 79, pag. 218. 1915.

de gewone wijze ijken zooals dit o.a. voor nicotine is beschreven. In den regel echter heb ik voor alle zekerheid de ijking als volgt vorricht. Eerst wordt 2 × dezelfde (kleine) hoeveelheid adrenaline ingespoten om na te gaan of beide malen de uitslag dezelfde is. Is dit het geval, dan wordt een reeks inspuitingen gedaan met wisselende hoeveelheden adrenaline en daarna een inspuiting van pituitrine. Men kan dan tenslotte nog door een adrenaline-inspuiting controleeren of de gevoeligheid van het dier tegen adrenaline niet is veranderd. De dosis pituitrine wordt dan gelijkgesteld met de dosis adrenaline, waarmede zij in werking het meest overeenkomt. Deze methode is natuurlijk alleen dan veroorloofd, indien de C—W curve van adrenaline met die van pituitrine overeenkomt. Dit is inderdaad het geval, zooals op blz. 17 (vergel. fig. 4) is beschreven.

Boven is reeds uiteengezet, dat pituglandol en hypophysine niet met de bloedsdruk-methode kunnen worden geijkt, omdat ze blijkbaar naast de stof die bloedsdrukstijging geeft nog een tweede stof bevatten, die bloedsdrukdaling veroorzaakt. Deze laatste stof kon door Schäfer en Vincent [1]) met chemische methoden uit hypophysisextracten worden geisoleerd. Zij komt in eigenschappen overeen met choline, maar is geen choline [2]).

Meerdere bijzonderheden over de bloedsdruk-methode vallen niet te vermelden. In hoeverre zij nauwkeurig is blijkt uit tabel 9. In deze tabel is aangegeven met hoeveel mgr. adrenaline 1 c.M³. pituitrine in werking op den bloedsdruk overeenkomt. Met uitzondering van de waarde uit proef IV komen de verschillende waarden vrij goed met het gemiddelde overeen, zoodat de methode wat dit betreft bruikbaar is.

Tabel 9.

Proef											
I	werking	van	1 c.M³.	pituitrine	komt	overeen	met	die	van	0,09 mgr.	adrenaline
II	,,	,,	1 c.M³.	,,	,,	,,	,,	,,	,,	0,075 ,,	,,
III	,,	,,	1 c.M³.	,,	,,	,,	,,	,,	,,	0,1 ,,	,,
IV	,,	,,	1 c.M³.	,,	,,	,,	,,	,,	,,	0,05 ,,	,,
V	,,	,,	1 c.M³.	,,	,,	,,	,,	,,	,,	0,08 ,,	,,
									Gemiddeld	0,078 mgr.	

Voor de ijking van hypophysis-praeparaten heeft men dus de volgende methoden.

a. Overlevende uterus. IJking tegen een standaard hypophysis-praeparaat, geeft nauwkeurige uitkomsten.

IJking tegen β-i geeft voor pituitrine goede uitkomsten.

Voor andere handelspraeparaten hypophysine, pituglandol enz. is dit nog niet uitgemaakt.

IJking tegen pilocarpine geeft slechte resultaten.

---

1) E. Schäfer and S. Vincent. On the action of extract of pituitary injected intravenously.
Journ. of phys. Proc. Phys. soc. Vol. XXIV, pag. XIX. 1899.

2) E. Schäfer and S. Vincent. The physiological effects of extracts of the pituitary body.
Journ of physiol. Vol. XXV, pag. 86. 1899.

b. bloedsdruk-methode. Pituitrine tegen standaard pituitrine of pituitrine tegen adrenaline.

Deze methode is niet bruikbaar voor pituglandol en hypophysine en voor een onderzocht Hollandsch hypophysis-extract.

In den laatsten tijd is een nieuwo aanwending van hypophysis-praeparaten in zwang gekomen n.l. bij de therapie van de asthma. Bekend is, dat adrenaline een verwijding van de fijnste vertakkingen van de luchtpijp veroorzaakt, vooral als die bronchioli te voren nauw waren. Dit maakt dus het adrenaline tot een geschikt middel tegen de acute asthma-aanvallen. Deze eigenschap van het adrenaline zou volgens don fabrikant van het bekende asthmamiddel „asthmolysine" door hypophysine worden gepotontieerd.

Er is tot nu toe geen enkel onderzoek bekend, waaruit met zekerheid blijkt, dat dit het geval is. Indien echter hypophysis-praeparaten inderdaad een dergelijke werking uitoefenen is het nog onzeker of dezo werking parallel gaat met die op den uterus. Volgens de ervaringen van DALE is dit waarschijnlijk wel zoo, maar het zou mogelijk blijven, dat in overeenstemming met de opvattingen van SCHÄFER en HERRING en die van ENGELAND en KUTSCHER (vergel. blz. 87) de werking op de bronchioli niet of althans niet in hoofdzaak door dezelfde stof wordt veroorzaakt, die do bloedsdrukstijging en de werking op den uterus geeft. En to meer wordt dit mogelijk, als mocht blijken dat de bloedsdrukverlagendo stof van pituglandol en hypophysine inderdaad een essentieel bestanddoel van het orgaan-extract is.

Het is dus in ieder geval niet geheel zeker, dat die werking, die men voor een asthmamiddel zou noodig hebben, geheel parallel gaat met de werking op den uterus en met deze mogelijkheid zal men misschien in de toekomst bij de ijking van hypophysis-praeparaten rekening moeten houden. Dit is thans nog niet mogelijk, omdat nog geen goede quantitatieve methode voor de werking van adrenaline en pituitrine op de bronchioli bestaat. Vermoedelijk zal men bij het werken op de overlevende cavia long, waarbij de bronchioli tot contractie kunnen worden gebracht (dus a.h.w. een acute asthma-aanval kan worden opgewekt) door toevoeging van een kleine hoeveelheid pepton aan de doorstroomingsvloeistof, wel goede uitkomsten kunnen verkrijgen. Dit vraagstuk is thans in bewerking.

THYREOIDINE-PRAEPARATEN.

Algemeene beschouwingen.

Omtrent de chemische samenstelling van de werkzame bestanddeelen van schildklierpraeparaten is zeer weinig bekend.

OSWALD heeft uit thyreoidine-extracten een globuline geïsoleerd, het jodthyreoglobuline [1]). Het is sterk jodiumhoudend en bevat volgens OSWALD alle werkzame bestanddeelen van de schildklieren. Behalve het jodthyreoglobuline vond OSWALD nog een nucleoproteid, dat volgens hem geen physiologische werking uitoefent. ROMEIS vond bij zijn stofwisselingsproeven op kikvorschlarven (zie later) in overeenstemming met OSWALD dat het jodthyreoglobuline alle eigenschappen van schildklierextract had. Het nucleoproteid echter had — dit in afwijking met OSWALD —

1) A. J. OSWALD. Die Eiweisskörper der Schilddrüse Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 27, pag. 14. 1899.
A. J. OSWALD. Ueber die Wirkung der Schilddrüse auf den Blutkreislauf.
I Pflüg. Arch. Bd. 164, pag. 506. 1916.
Idem II. Pflüg. Arch. Bd. 166, pag. 169. 1916.

wel een physiologische werking maar — ook qualitatief — een geheel andere dan het thyreoglobuline. Reeds in 1896, dus voordat OSWALD zijn onderzoekingen mededeelde, had BAUMANN [1]) (die ook de eerste was, die op het hooge jodiumgehalte van de schildklier wees), een stof geïsoleerd, het thyreojodine, later jodothyrine genoemd, dat van eenvoudiger samenstelling is dan het jodthyreoglobuline van OSWALD en dat volgens BAUMANN de werkzame stof uit de schildklier was.

Uit latere onderzoekingen is nu gebleken, dat de werking van BAUMANN's jodothyrine weliswaar in een enkel opzicht met die van schildklierextract overeenkomt, maar daarmede geenszins identiek is en tevens dat jodothyrine niet als zoodanig in de schildklier voorkomt. In welken vorm het werkzame bestanddeel dan wel in de schildklier zich bevindt, is niet bekend. Zeker is, dat men uit de schildklier het jodthyreoglobuline bereiden kan, maar ROMEIS [2]), die een voortreffelijk kritisch literatuur-overzicht hieromtrent geeft, meent, dat men toch met de mogelijkheid moet rekening houden, dat het werkelijk werkzame bestanddeel geen *eiwit* is, maar dat het zich eerst gedurende de bereiding van het jodthyreoglobuline aan het globuline-molecuul bindt. Deze vraag is daarom zoo belangrijk, omdat indien het werkzame bestanddeel een stof is van eenvoudiger samenstelling dan eiwit, men meer kans zou hebben, om in de naaste toekomst de chemisehe samenstelling ervan te leeren kennen. En inderdaad komen juist in den jongsten tijd steeds meer aanwijzingen dat met eiwitvrije- uit de schildklier gewonnen stoffen een typische schildklierwerking te verkrijgen is. ROMEIS heeft uitvoerige onderzoekingen hierover gedaan en heeft getracht door dialyse en door ultrafiltratie uit thyreoidea-extracten een eiwitvrije physiologisch werkzame stof te verkrijgen. Hij meent, dat door zijn proeven de zaak nog niet met volkomen zekerheid is uitgemaakt, evenmin als door de onderzoekingen van DRECHSEL, ROSE, TAWCETT, RATE, HACKET en KOYERS, ABDERHALDEN en KUHN en door een mededeeling van ABELIN uit het laboratorium van ASHER, die allen meenden te hebben aangetoond, dat eiwitvrije- uit schildklier-extracten geïsoleerde stoffen de volle werking kunnen hebben.

Een ander punt, dat sedert de ontdekking van het hooge jodiumgehalte der schildklier door BAUMANN, steeds aan de orde is geweest, is de vraag of het jodiumgehalte beslissend is voor de werkzaamheid van een schildklier-praeparaat. Deze vraag is vooral hierom belangrijk, omdat men herhaaldelijk — en ook de Ned.

1) BAUMANN. Ueber das normale Vorkommen von Jod im Tierkörper. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 21 pag. 319. 1896.
BAUMANN. Ueber der Jodgehalt der Schilddrüse von Menschen und Tieren. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 22, pag. 1. 1896.

2) Lit. zie blz. 98.

pharmacopee Ed. IV staat op dit standpunt — bij gebrek aan een voldoende chemische of physiologische methode, getracht heeft de werkzaamheid van een schildklier-praeparaat te beoordeelen naar het jodiumgehalte. Het spreekt vanzelf, dat de noodzakelijkheid van een physiologische waardebepaling van thyreoideapraeparaten staat of valt met deze kwestie. Want is een jodiumbepaling voldoende, dan is het zoeken naar een physiologische methode overbodig.

Uit de onderzoekingen van BAUMANN, OSWALD, ROMEIS en vele anderen zijn nu drie zaken met zekerheid gebleken.

1e. Het komt herhaaldelijk voor, dat een praeparaat met een hoog jodiumgehalte een sterke physiologische werking en een praeparaat met een laag jodiumgehalte een zwakke physiologische werking uitoefent, maar jodiumgehalte en physiologische werking behoeven geenszins parallel te gaan. OSWALD vond bijv. dat 0.06 gr. jodothyrine, dat 1.5 mgr. jodium bevatte een zwakkere werking had dan 0.15 gr. jodthyreoglobuline met 0.5 mgr. jodium, waarbij als criterium voor de werking de invloed van thyreoidine op het sympathisch zenuwstelsel werd genomen.

ABELIN[1]) onderzocht den invloed van verschillende thyreoideabestanddeelen op de stikstofuitscheiding bij honden (zie hieromtrent blz. 97) en vond eveneens, dat jodiumgehalte en vermeerdering der N-uitscheiding geenszins parallel gaan, zooals uit onderstaande tabel uit ABELIN's mededeeling blijkt.

Tabel 10.

	Thyreoglandol. c.M³.	TABLETTEN. Zahl. g.	Schilddrüsensubstanz. g.	Jod eingeführt. g.	Die höchste gefundene Stickstoffsteigerung. %
Hündin I vor der Schilddrüsenoperation	—	100	32.4	0.01620	124
Hündin I vor der Schilddrüsenoperation	90	—	—	0.00117	128
Hündin I nach der Schilddrüsenentfernung	84	—	—	0.00109	73
Hündin I nach der Schilddrüsenentfernung	—	60	19.44	0.00972	137
Hündin I nach der Schilddrüsenentfernung	80	—	—	0.00104	55
Hündin II normal	126	—	—	0.00164	0
Hündin II normal	—	30	9.72	0.00486	0

1) J. ABELIN. Nachweis der Stoffwechselwirkung der Schilddrüse mit Hilfe eines eiweissfreien oder jodarmen Schilddrüsenproparates. Biochem. Zeitschr. Bd. 80, pag. 259, 1917.

HERZFELD en KLINGER [1]) deelden kort geleden mede, dat zij met een abiureet jodiumvrij schildklier-praeparaat door intraperitoneale inspuitingen bij ratten kropgezwellen bij deze dieren konden doen verdwijnen. Zij staan — op grond van hun ondorzoekingen — op het standpunt, dat het secreet van de schildklier jodiumvrij is.

2e. Ongetwijfeld komen stoffen in de schildklier voor (ROMEIS, OSWALD, ABELIN) die geen jodium bevatten en toch een duidelijke physiologische werking hebben, terwijl ook herhaaldelijk in schildklieren van kinderen geen jodium werd gevonden, zonder dat deze kinderen eenig verschijnsel van insuffiscientie der schildklieren gedurende het leven hadden vertoond.

3e. Men kan kunstmatig jodeiwitverbindingen bereiken, die een hoog jodiumgehalte hebben en geen physiologische werking. Bovendien wordt bij kunstmatig verhoogen van het jodiumgehalte van thyreoidine-praeparaten niet de physiologische werking versterkt.

Uit het bovenstaande blijkt, dat de Ned. pharmacopee Ed. IV geen voldoende waarborg voor de werkzaamheid van thyreoidine-praeparaten geeft, indien zij eischt dat schildklieren aan gezonde schapen op een bepaalde wijze moeten worden ontnomen, daarna gedroogd en tot poeder gebracht, waarbij dan dit poeder 0,4% jodium moet bevatten [2]). Hierbij komt nog dat door het stellen van dezen eisch, absoluut geen waarborg wordt gegeven, dat de schildkliersubstantie niet is vermengd met niet specifieke joodeiwitverbindingen die ondanks haar jodiumgehalte geen schildklierwerking kunnen uitoefenen.

* * *

Bij het zoeken naar een physiologische methode moet natuurlijk weer getracht worden als criterium voor de werkzaamheid der praeparaten een werking te krijgen, die zooveel mogelijk met de therapeutische werking van het geneesmiddel overeenkomt.

Nu wordt schildkliersubstantie in de therapie in hoofdzaak gebruikt bij de behandeling van cretinisme en myxoedeem, beide ziekten waarbij in het lichaam van den patiënt een tekort aan bepaalde schildklierproducten bestaat. De toepassing van schildkliertabletten bij de behandeling van vetzucht staat in belangrijkheid verre achter bij de genoemde indicaties. De beste methode om thyreoidea-praeparaten te ijken zou dus zijn, dat men bij dieren kunstmatig myxoedeem teweegbracht en dan trachtte de daarbij optredende verschijnselen door toedienen van schildklierpraeparaten te doen verdwijnen. Deze weg is gevolgd door PICK en PINELIS [3]). Zij verwijderden bij zeer jonge geiten de schildklier en zagen na eenige maanden de typische verschijnselen van myxoedeem optreden, die zij als volgt beschrijven:

„Zurückbleiben in Wachsthum, cretinoide Schädelbildung,

1) HERZFELD und KLINGER. Münch. Med. Wochenschr. 1918, pag. 647.

2) Zie voor kritiek op het voorschrift der Pharmacopee nog D. VAN OS. Glandulae thyreoideae Pharmac. Weekblad 1918, no. 43. p. 1427.

3) P. PICK en T. PINELIS. Untersuchungen über die physiologisch wirksame Substanz der Schilddrüse. Zeitschr. f. exp. Path. en Ther. Bd. 7, pag. 518. 1909.

Plumpheit der Extremitäten, aufgetriebenes Abdomen, myxödematöse Schwellungen besonders am Halse und im Gesicht, struppiges Fell, grosse Trägheit der Bewegungen und grosse körperliche Schwäche, häufig auch schnarchendes Athmen, bedingt durch myxödematöse Schwellungen in den oberen Luftwegen".

Waren deze verschijnselen duidelijk aanwezig, dan werd gedurende eenigen tijd dagelijks een bepaald schildklierpraeparaat toegediend en nagegaan of de verschijnselen verdwenen. Dit bleek inderdaad te geschieden, indien extract van varkensschildklieren of jodthyreoglobuline, niet echter wanneer jodothyrine, werd gegeven.

Behalve de hier besproken specifieke werking oefenen echter schildklierextracten nog tal van anderen werkingen uit. Zoo treedt bij toedienen van schildkliersubstantie aan menschen of dieren een verhoogde stofwisseling op, die voor menschen het eerst door VERMEHREN [1]) en MAGNUS-LEVY [2]), voor dieren het eerst door SCHÖNDORFF [3]) en VOIT [4]) is aangetoond.

Wordt schildkliersubstantie aan kikvorschlarven in een bepaald stadium van de ontwikkeling gevoerd, dan treden zeer merkwaardige stoornissen in groei en metamorphose op, zooals het eerst door GUNDERNATSCH [5]) is beschreven.

Wordt bij een dier schildkliersubstantie in een ader ingespoten, dan kan men een verhoogde prikkelbaarheid van den vagus (CYON [6]) en een vermeerderde gevoeligheid van den sympathicus voor adrenaline aantoonen (KRAUS en FRIEDENTHAL [7]). Dit laatste effect is ook waar te nemen op overlevende organen. (EIGER [8]).

Worden muizen, ratten of caviae gevoerd met schildkliersubstantie, dan verandert hun gevoeligheid voor verschillende vergiften, o.a. voor acetonitril (REID HUNT en SEIDELL [9]).

Behalve deze werkingen zijn er nog andere. De genoemde wer-

---

1) VERMEHREN. Deutsch. Med. Wochenschr. 1893, pag. 1037.

2) A. MAGNUS-LEVY. Ueber Myxoedem. Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 52 pag. 201. 1904.

3) B. SCHÖNDORFF. Pflüg. Arch. Bd. 67, pag. 395.

4) Fr. VOIT. Zeitschr. f. Biol. Bd 35, pag. 116. 1897.

5) F. GUNDERNATSCH. Feedingexperiments on Tadpoles I. Arch. f. Entwick. Mech. Bd. 35.

Idem. Feedingexperiments on Tadpoles II. Amer. Journ. of. anatomy. Vol. 15.

6) E. v. CYON. Jodothyrin und Atropin. Pflüg. Arch. Bd. 70, pag. 511. 1898.

E. v. CYON. Die physiologischen Herzgifte. Pflüg. Arch. Bd. 73, pag. 42. 1898.

7) KRAUS und FRIEDENTHAL. Ueber die Wirkung der Schilddrüsenstoffe. Berl. Klin. Wochenschr. 1908. No. 38.

8) M. EIGER. Der biologische Nachweis der inneren Sekretion der Schilddrüse im Blute der mit Schilddrüsenextrakten gefütterten weissen Ratten. Zeitschr. f. Biol. Bd. 67, pag. 253. 1917.

9) REID HUNT and SEIDELL. Studies on Thyreoid. Hyg. Lab. Bull. 47 Pub. Haelth and Mar. Hosp. Serv. of the U. S. Oct. 1908 Washington.

kingen echter worden alle door verschillende onderzoekers benut als criterium bij het bepalen van de werkzaamheid van schildklierpraeparaten. Een aantal van deze methoden zullen uitvoeriger worden besproken, maar vooropgesteld moet worden, dat de eenige methode, die zeker rationeel is, die van PICK en PINELES is. Bij alle andere methoden blijft steeds de vraag open, of de stof, waarvan men de aanwezigheid quantitatief bepaalt, dezelfde is als die, welke de specifieke werking uitoefent, die voor de therapie van cretinisme en myxoedeem wordt gevraagd. Want deze vraag is nog niet beantwoord. Wel daarentegen weet men zeker, dat verschillende schildklierpraeparaten qualitatief verschillende werking hebben, wat bijv. onmiddellijk blijkt uit het feit, dat het door BAUMANN gevondene jodothyrine in de proeven van PICK en PINELES *geen*, in de onderzoekingen op kikvorschlarven en die van REID HUNT (acetonitrilgevoeligheid) wel degelijk een invloed uitoefende.

De methoden, die thans beschreven worden, zullen dus zeker niet alle een juiste aanwijzing geven over de hoeveelheid van het schildklierbestanddeel, dat men voor de therapie het meeste noodig heeft. In de toekomst zal — door vergelijking van de uitkomsten die met de methode van PICK en PINELES en die met de andere methoden worden verkregen — moeten worden uitgemaakt, welke van de laatste de methode van PICK en PINELES eventueel kan vervangen. De overige methoden zullen dan toch wellicht nuttig zijn, om te bepalen de hoeveelheid van de werkzame bestanddeelen uit de schildklier, die men — wegens hun nadeelige werking — juist *niet* in de schildklier-praeparaten zou willen hebben.

Zoo zou het bijvoorbeeld mogelijk zijn, dat in de toekomst de bestanddeelen, die een werking op het hart uitoefenen en die, welke de specifieke werking tegen cretinisme em myxoedeem hebben — vooropgesteld dat het verschillende bestanddeelen zijn — waren te scheiden, wat van groot nut zou zijn.

Behalve de boven reeds vermelde methode van PICK en PINELES moeten nog worden besproken:

1e. Het onderzoek van ABELIN (invloed van thyreoidine op de N-uitscheiding bij honden).
2e. De kikvorschlarven-methode.
3e. De methode van REID HUNT (acetonitrilreactie van muizen).
4e. Methode van OSWALD (invloed van thyreoidine op prikkelbaarheid van vagus en sympathicus).
5e. Methode van EIGER (invloed van thyreoidine op de adrenalinewerking op overlevende organen).

1. *Invloed van schildkliersubstantie op de N-uitscheïding bij honden.*

Schildkliersubstantie geeft bij honden een vermeerdering der

stikstofuitscheiding zooals het eerst door SCHÖNDORFF [1]) en door VOIT [2]) is aangetoond. ABELIN [3]) heeft den invloed van verschillende schildklierpraeparaten op de N-uitscheiding onderzocht bij normale honden en bij honden, waar de schildklier operatief was verwijderd. Uit zijn onderzoek blijkt, dat men wel op deze wijze kan aantoonen of een bepaald praeparaat al dan niet de stofwisseling beïnvloedt, maar dit zegt nog niet, dat de methode voor nauwkeurig quantitatief onderzoek geschikt is. Zeker is, dat er honden zijn, die niet reageeren ; men zal dus bij een ijking het onbekende en het bekende praeparaat moeten vergelijken op éénzelfden hond, waarvan te voren gebleken is, dat hij *wel* reageert. Maar daarbij heeft men weer het bezwaar, dat men bij eenzelfden hond in twee verschillende perioden na toediening van eenzelfde hoeveelheid van een bepaald schildklierpraeparaat niet beide malen dezelfde vermeerdering der stikstofuitscheiding krijgt, ook als alle overige omstandigheden in beide perioden zooveel mogelijk gelijk worden gemaakt.

Het schijnt dus — zooals boven reeds werd vermeld —, dat deze methode wel bruikbaar is om na te gaan of een bepaald praeparaat schildkliersubstantie bevat, die werkzaam is op de stofwisseling en dat eveneens met de methode de hoeveelheid der werkzame bestanddeelen kan worden geschat, maar dat nauwkeurig quantitatief werk op deze wijze niet mogelijk is.

2. *Kikvorschlarven-methode.*

GUDERNATSCH heeft in 1912 aangetoond [4]), dat bij kikvorschlarven door voeding met verschillende orgaanpraeparaten, o.a. met schildklierweefsel, veranderingen in groei en metamorphose zijn op te wekken. ROMEIS [5]) heeft dit verschijnsel verder bestu-

---

1) B. SCHÖNDORFF. Pflüg. Arch. Bd. 67, pag. 395. 1897.

2) Fr. VOIT. Zeischr. f. Biol. Bd. 35, pag. 116. 1897.

3) J. ABELIN. Nachweis der Stoffwechselwirkung der Schilddrüse mit Hilfe eines eiweissfreien oder jodarmen Schilddrüsen-präparates. Biochem. Zeitschr. Bd. 80, pag. 259. 1917.

4) F. GUDERNATSCH. Feeding experiments on Tadpoles I. Arch. f. Entw. mechan. Bd. 35. 1912.

F. GUDERNATSCH. Feeding experiments on Tadpoles II. Am. Journ. of Anat. Vol. 15. 1913, '14.

5) B. ROMEIS. Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung innersekretorischer Organe I.
Arch. f. Entw. mech. Bd. 37. 1913.
Idem II.
Arch. f. Entw. mech. Bd. 40 en 41 1914—'15.
Idem III.
Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. Bd. IV, pag 379. 1915.
Idem IV.
Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. Bd. V, pag. 99. 1917.
Idem V.
Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. Bd. VI, pag. 101, 1918.

deerd en ten slotte als qualitatieve methode uitgewerkt. In 1914 gaf hij (ROMEIS) een overzicht over de physiologische werkzaamheid van verschillende thyreoidine-praeparaten, die in den handel voorkomen, waarvan de uitkomsten reeds in tabel 8 zijn vermeld. In 1917 heeft ROGOFF [1]), voortbouwende op de onderzoekingen van GUDERNATSCH en naar het schijnt onafhankelijk van ROMEIS, eveneens een methode tot onderzoek van schildklierpraeparaten beschreven, waarbij de invloed op den groei en metamorphose bij kikvorschlarven als toets voor de werkzaamheid der praeparaten werd aangewend.

ROGOFF onderzocht 7 praeparaten, die uit verschillende apotheken betrokken waren, en vond dat 2 ervan 20% meer werkzaam waren dan een standaardpraeparaat; 2 waren gelijk met den standaard; één was 50% minder werkzaam, een volgend ruim 50% minder werkzaam en het laatste praeparaat was practisch onwerkzaam.

De methode, die ROMEIS en ROGOFF benutten, kwam hierop neer, dat zij aan een aantal kikvorschlarven, die overigens zooveel mogelijk in dezelfde conditie waren, inplaats van het gewone voedsel, toedienden voedsel waaraan op bepaalde dagen schildklier-praeparaten waren toegevoegd. Een reeks van larven kreeg natuurlijk ter contrôle alleen het gewone voedsel. De invloed van de thyreoidine-toediening uit zich in een versnelde metamorphose en in een vermindering in groei, terwijl tenslotte, wanneer relatief veel schildklier was toegevoegd, de dieren te gronde gingen. ROMEIS, die reeds in zijn eerste publicaties zeer nauwkeurige mededeelingen over zijn proeven doet en het vraagstuk grondig heeft bestudeerd, heeft, nadat hij zijn onderzoek op verschillende thyreoidine-praeparaten had verricht, getracht de stof, die den typischen invloed op de metamorphose der kikvorschen teweegbrengt, uit het schildklier-extract te isoleeren.

Bij deze pogingen bleek nu, dat het vraagstuk veel ingewikkelder is, dan het zich oorspronkelijk liet aanzien. Voor uitvoerige inlichtingen zij naar het oorspronkelijke artikel van ROMEIS verwezen. Hier kan alleen zeer in het kort worden vermeld, dat ROMEIS aantoonde, dat door kikvorschen te voeren met een der volgende stoffen:
versche schildklier- of al dan niet ontvette, gedroogde schildkliersubstantie,
jodthyreoglobuline,
jodothyrine en
eiwithoudende waterige schildklierextracten,
de normale metamorphose sterk wordt versneld, terwijl de dieren in ontwikkeling achterblijven en veelal te gronde gaan. De versnelde metamorphose heeft niet alleen betrekking op de uitwendige, zichtbare verschijnselen (vorming van extremiteiten, verdwijnen van staart, enz.), maar ook op den groei der inwendige organen, vreetorgaan, skelet van boven- en onderkaak, vorm van tong, maagdarmkanaal, maag, lever, pancreas, nieren enz.

De invloed van deze schildklierbestanddeelen op kikvorschlarven is, behalve van de hoeveelheid, die gegeven wordt, afhankelijk van het tijdstip der ontwikkeling,

1) J. M. ROGOFF. A method for the standardization of thyreoid-preparations. Journ. of pharm. and exp. therap. Vol. X, pag. 199. 1917.

waarop het abnorme voedsel wordt toegediend en ook nog van den *aard* van het praeparaat; jodothyrine geeft bijv. afwijkende verschijnselen.

De versnelling van de metamorphose en de remming van den groei zijn niet van dezelfde stof afhankelijk, want het gelukte ROMEIS schildklierextracten te bereiden, die alleen de éene of alleen de andere werking uitoefenden, tenslotte kon hij door extractie met alcohol, toluol of aceton uit schildklierweefsel een stof bereiden, die inplaats van een ver*snelling* een *vertraging* der metamorphose teweegbracht.

Behalve dit, heeft men bij een onderzoek, waarbij schildklier-substantie aan kikvorschlarven wordt gevoed, altijd een samengaan van twee invloeden, n.l. de werking van de schildklier-substantie als zoodanig en den invloed orvan op de schildklier van het *jonge dier*. Want al naarmate van de dosis en van den tijd gedurende welken de schildklier-substantie aan een dier wordt gevoerd, zal deze stof de schildklier van het jonge dier geheel of gedeeltelijk doen atrophieeren, terwijl bovendien een hoog jodiumgehalte van de toegevoegde stof de schildklier van het dier in het eene geval kan prikkelen, in een ander geval kan onbeïnvloed laten. Ook dit kan een groot verschil in de uitkomst van verschillende proeven opleveren.

Uit dit laatste onderzoek van ROMEIS blijkt dus wel, dat hoewel onze kennis omtrent den invloed van verschillende schildklier-praeparaten op de ontwikkeling van kikvorschlarven zeer verrijkt is, een goede *quantitatieve* methode, om de werkzaamheid van op verschillende wijzen bereide thyreoidine-praeparaten onderling te vergelijken, nog niet bestaat. Het is dus ook niet noodig, nog meer bijzonderheden omtrent de hierbij te volgen techniek te vermelden. De hoofdzaak was, de aandacht op deze zijde van het vraagstuk der ijking van thyreoidine-praeparaten te vestigen, omdat in deze richting mogelijk de oplossing van het vraagstuk zal worden gevonden. Voorloopig kan men alle gewenschte inlichtingen in de geciteerde mededeelingen (vooral de laatste) van ROMEIS vinden.

3. *Acetonitril-methode.*

Een zeer eigenaardige methode voor het onderzoek van de werkzaamheid van thyreoidine-praeparaten is die van REID HUNT en SEIDELL. Deze methode berust n.l. op 't feit, dat de gevoeligheid van verschillende dieren voor eenige vergiften door het voeren van thyreoidine-praeparaten kan worden gewijzigd. Zoo worden onder invloed van schildklier-substantie muizen *minder* gevoelig, ratten en caviae *meer* gevoelig voor acetonitril, terwijl voor morphine de gevoeligheid zoowel van muizen als ratten en caviae toeneemt.

Het best voor onderzoek geschikt schijnt te zijn de invloed van de schildkliervoeding op de gevoeligheid van muizen voor acetonitril. REID HUNT en SEIDELL [1]) vonden, dat zelfs hoeveelheden van 0,1 mgr. thyreoidine gedurende 10 dagen aan muizen gevoerd de resistentie tegen acetonitril duidelijk verhoogt. En een groote hoeveelheid (20 mgr. in 10 dagen) bracht de minimum letale dosis, die eerst 5,84 mgr. bedroeg, op 105,08 mgr., dus op het twintigvoudige.

REID HUNT heeft hier in ieder geval een zeer gevoelig reagens op thyreoidine, maar behalve dit, schijnt de methode ook voor quantitatief onderzoek geschikt. Hierbij moeten echter een aantal voorzorgen worden in acht genomen. In de eerste plaats bestaat individueel onderscheid in gevoeligheid tusschen verschillende dieren en verschilt de gevoeligheid zeer naarmate van den tijd van het jaar en vooral ook naarmate van de voeding die de dieren krijgen (vergel. REID HUNT [2]). Het is dus noodig om tel-

1) REID HUNT and SEIDELL. Studies on Thyreoid. Hyg. Lab. Bull. 47. Pub. Health and Mar.-Hosp. Serv. of the U. S. Oct. 1908. Washington.

2) REID HUNT. The effects of a restricted diet and of various diets upon the resistance of animals to certain poisons. Hyg. Lab. Bull. No. 69. Pub. Health. and Mar.-Hosp. Serv. of the U. S. Juni 1910 Washington.

kens weer in elke reeks van onderzoekingen contrôleproeven te doen met normale muizen. Daarnaast echter is ook van belang, de hoeveelheid thyreoidine en acetonitril, die wordt ingespoten. Reid Hunt en Seidell wijzen erop, dat niet steeds een tweemaal grootere dosis ook een tweemaal grootere werking zal hebben. Er is een zône, waarin een kleine vermeerdering van thyreoidine een groote vermeerdering in resistentie tegen acetonitril geeft en daarna volgt dan een zone, waarin de verschillen in resistentie veel minder zijn. De curve, die deze verhoudingen aangeeft, heeft den loop van een parabool, merken zij op. Dat wil dus zeggen, dat de concentratie-werkingscurve van thyreoidine (als werking = verhooging der resistentie tegen acetonitril) een verloop heeft als in fig. 17 is voorgesteld. Sterk den nadruk leggen Reid Hunt en zijn medewerkers erop, dat moet gewerkt worden met dosen, die behoorlijk onder de maximale en boven de minimale liggen (dus in zône b—c van de concentratie-werkingscurve, vergel. blz. 64).

Met inachtneming van deze voorzorgen kunnen de schrijvers groot onderscheid in de werkzaamheid van verschillende thyreoidine-praeparaten, uit den handel en in door hen bereide schildkliersubstantie van verschillende menschen en dieren aantoonen. De vraag is echter weer, of de verhooging van de resistentie van de muis voor acetonitril parallel gaat aan de therapeutische werking bij den mensch. Reid Hunt en Seidell meenen, dat dit zoo is en wel op de volgende gronden. Thyreoidine verhoogt wel de resistentie van muizen tegenover acetonitril maar niet tegenover HCN. Aangezien nu aangenomen wordt, dat de giftigheid van acetonitril alleen afhankelijk is van de H C N die daaruit in het lichaam ontstaat, volgt hieruit, dat de thyreoidine invloed moet uitoefenen op de omzetting van acetonitril in H C N in het lichaam van het dier. Waar Reid Hunt en Seidell berekenen, dat zeker hier niet een gewone verbinding tusschen thyreoidine, of een bestanddeel daarvan, en acetonitril in het spel kan zijn, moet worden aangenomen, dat een door de schildkliersubstantie veroorzaakte verandering in het *metabolisme* de oorzaak van het verschijnsel is. En de essentieele werking van schildklierextract is juist volgens Reid Hunt een verandering in het metabolisme.

Deze laatste opvatting van Reid Hunt is natuurlijk niet bewezen. Merkwaardig is nu echter, dat blijkens een zeer groot aantal proeven de resistentie-vermeerdering door thyreoidine-praeparaten eigenlijk geheel afhankelijk is van het jodiumgehalte van die praeparaten. Wel kregen Reid Hunt en Seidell een — zij het ook geringe — werking met jodiumvrije praeparaten, zoodat zij aannemen, dat waarschijnlijk joodvrije thyreoglobuline ook een werking hebben kan, maar in het algemeen nemen zij een parallelisme tusschen jodiumgehalte en resistentie-vermeerdering aan. Het komt mij voor, dat deze groote overeenkomst tusschen jodiumgehalte en schildklierwerking — een overeenkomst, die door vele andere onderzoekers met andere methoden niet of veel minder scherp wordt gevonden — er zeer voor pleit, dat de resistentie-vermeerdering tegen acetonitril *niet* een aanwijzing omtrent de specifieke therapeutische werking van thyreoidine-praeparaten behoeft te geven. Zeker is, dat indien therapeutische werking en resistentievermeerdering tegen acetonitril parallel gaan en indien dit eveneens voor jodiumgehalte en resistentievermeerdering het geval is, dat dan een physiologische waardebepaling van schildklierpraeparaten overbodig zou zijn geworden en een bepaling van het jodiumgehalte afdoende is. Hierbij moet dan alleen als voorwaarde gesteld worden, dat men zeker ervan is zuivere schildkliersubstantie in handen te hebben, want Reid Hunt en Seidell [1]) toonden aan, dat *anorganische* jodiumzouten geen of bijna geen invloed op de acetonitrilreactie der muizen hebben. Trouwens ook verschillende *organische* jodiumverbindingen, o. a. die uit zeewier, bleken een geringeren invloed op de acetonitrilgevoeligheid te hebben dan jodiumhoudende schildklierextracten.

Reid Hunt's vondsten zijn zeker buitengewoon merkwaardig en belangrijk, het is echter nog twijfelachtig, of zijn onder-

1) Reid Hunt en Seidell. Thyreotropic iodine compounds. Journ. Pharm. and exp. therap. Vol. II. 1910.

Fig. 24.

Gedecapiteerde kat. Bloedsdruk.

Invlood van thyreoidine inspuitingen op de bloedsdrukstijging door adrenaline.

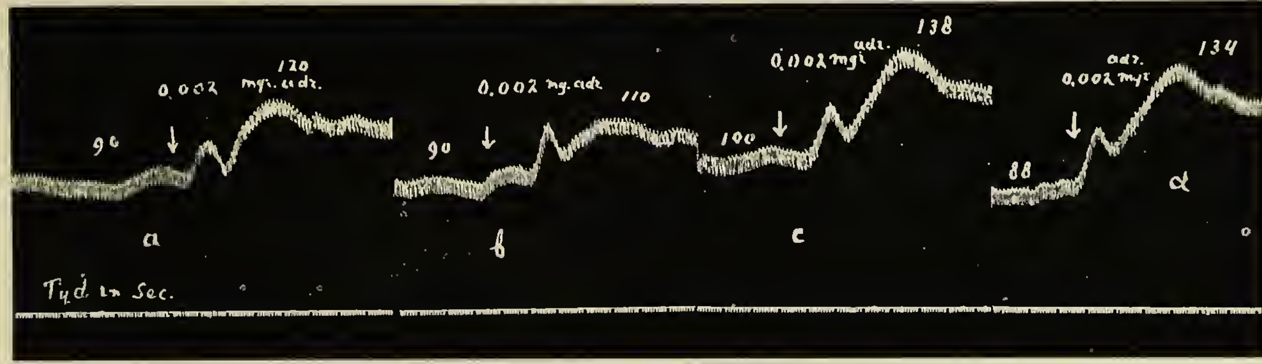


Fig. 24 a en b. Na 0,002 mgr. adrenaline stijgt de bloedsdruk resp. 30 en 20 m.M. Hg.

Tusschen fig. 24 b en c wordt 1 c.M³. van een oplossing, die op 50 c M³. de werkzame bestanddeelen van 1 thyreoidine tablet van Burrough and Welcome bevat, intraveneus ingespoten.

In fig 24 c is daarna een bloedsdrukstijging van 38 m.M. Hg.

Tusschen fig. 24 c en d. weer 1 c.M³. Thyreoidine ingespoten.

In fig. 24 d een bloedsdrukstijging van 46 m.M. Hg.

zoekingen een grondslag voor een rationeele waardebepaling van schildklier-praeparaten kunnen vormen.

***

Bij de reeds genoemde methoden tot physiologische waardebepaling van schildklier-praeparaten is steeds als toets voor de werkzaamheid gebruik gemaakt van de werking, die de schildkliersubstantie uitoefent, wanneer zij langen tijd achtereen aan dieren wordt gegeven. Men heeft echter ook getracht, acute werkingen van schildklierextract hiertoe te gebruiken, wat natuurlijk — indien de methode overigens ook goed is — zeer belangrijke voordeelen heeft.

4. *Methode van Oswald.*

Als acute werking van thyreoidine kan men twee zaken demonstreeren, die wellicht op eenzelfde beginsel berusten. Spuit men bij een dier schildkliersubstantie in een ader in, dan is veelal het gevolg, dat: ten eerste het hart van het dier gevoeliger is geworden voor electrische prikkeling van den n. vagus en ten tweede het dier sterker op adrenaline reageert dan te voren.

Het eerste verschijnsel is gevonden door v. Cyon, het tweede door Kraus en Friedenthal. Beide verschijnselen zijn gebruikt ter bepaling van de sterkte van thyreoidine-extracten en het is vooral Oswald, die deze methode uitgewerkt heeft.

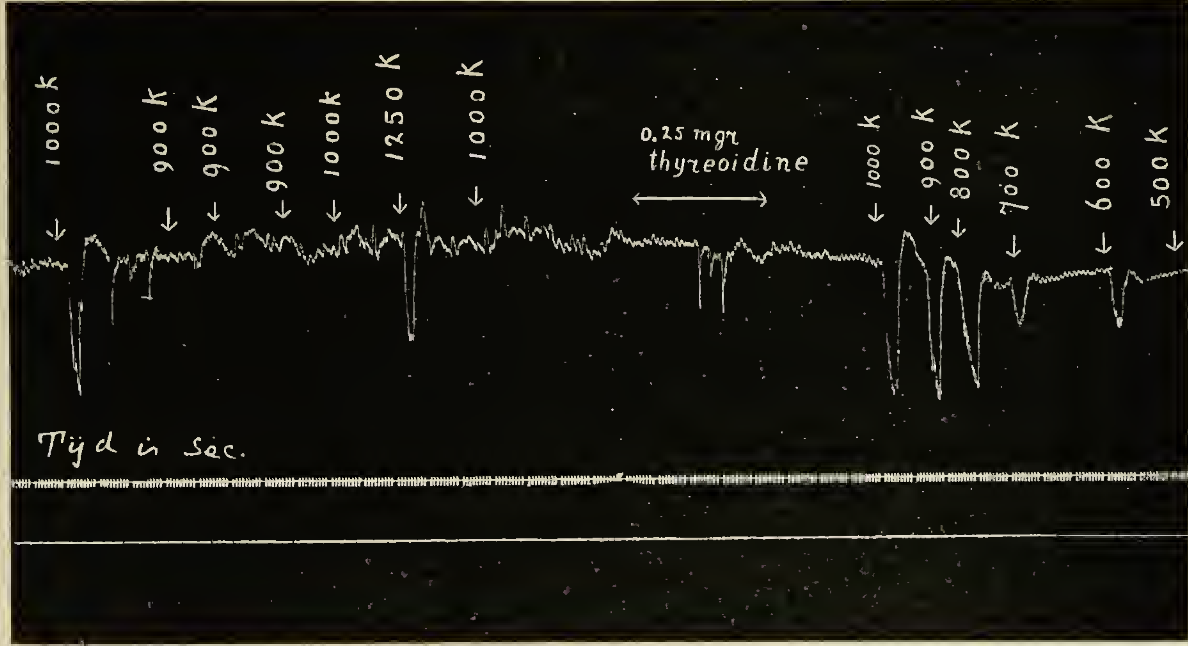
De techniek is betrekkelijk eenvoudig. Bij een dier wordt eerst eenige malen adrenaline ingespoten en het effect op den bloedsdruk nagegaan (zie boven), dan wordt thyreoidine ingespoten en vervolgens weer de bloedsdrukstijgende werking van eenzelfde dosis adrenaline onderzocht. Een voorbeeld van de „sensibiliseerende" werking, die thyreoidine in dit opzicht geeft, vindt men in fig. 24.

De vagusinvloed wordt als volgt nagegaan. Bij een dier registreert men den bloedsdruk. De beide vagi worden vrijgelegd en nu wordt óf de minimale stroomsterkte bepaald, waarmede bij prikkeling van linker of rechter vagus (de beide vagi reageeren niet gelijk) juist een bloedsdrukdaling wordt verkregen, óf er wordt nagegaan hoe sterk de bloedsdruk daalt na prikkeling met electrischen stroom van constante middelmatige sterkte. Oswald verkiest de laatste werkwijze. Na inspuiten van thyreoidine wordt opnieuw de gevoeligheid van het hart voor vagusprikkeling nagegaan en onderzocht of die is gestegen. Een voorbeeld van een dergelijk vaguseffect geeft fig. 25.

Deze beide methoden, die door Oswald zijn gebruikt om qualitatief of grof quantitatief de aanwezigheid van de werkzame stoffen uit de schildklier aan te toonen, zijn niet voor nauwkeurig quantitatief onderzoek geschikt. Ik heb tezamen met Mej. v. d. Made een honderdtal proeven in deze richting verricht en het resultaat was volkomen negatief. Noch op het genarcotiseerde, noch op het gedecerebreerde of gedecapiteerde dier waren met een dezer beide methoden de uitkomsten ook maar eenigermate betrouwbaar, want met hetzelfde praeparaat werden bij verschillende dieren verschillende uitkomsten verkregen. Wel was dik-

Fig. 25.

Bloedsdruk. Gedecapiteerde kat.



Bij ↓ prikkeling van der linker n. vagus met faradischen stroom *voor* de toediening van thyreoidea extract. Prikkeling met 1200 Kronecker eenheden heeft *wel*, prikkeling met 1000 K. *geen* effect. Na inspuiting van een oplossing die 0,25 mgr. thyreoidinetablet van Merck bevat geeft vagus prikkeling met 1000 K. en ook met 800 K. een even sterke daling van den bloedsdruk als te voren met 1250 K. en 600 K. geeft juist nog een daling, 500 K. niet meer.

wijls, zooals uit de fig. 24 en 25 blijkt, na zeer kleine dosen thyreoidine een duidelijk effect zichtbaar, maar herhaaldelijk bleef dit effect — soms zelfs na zeer groote dosen — uit. Wij hebben bij ons onderzoek tabletten van MERCK en van BURROUGH en WELCOME en drie praeparaten, die door de Kon. Pharmac. Handelsver. ter onzer beschikking waren gesteld, onderzocht, maar zonder resultaat.

5. *Methode van Eiger.*

Op een andere wijze heeft EIGER [1]) — eveneens gebruikmakende van de versterking der adrenalinewerking door schildkliersubstantie — een quantitatieve biologische methode uitgewerkt.

EIGER verrichtte zijn onderzoek op een z.g. Laewen-Trendelenburg praeparaat. Hierbij worden de beide achterbeenen van een kikvorsch met Ringersche vloeistof vanuit de aorta doorstroomd. De uit de venen afloopende vloeistof wordt opgevangen en de hoeveelheid ervan geeft natuurlijk een maat voor de wijdte der vaten. Meestal wordt niet de hoeveelheid vloeistof in c.M^3. uitgedrukt, maar wordt het aantal druppels geregistreerd (door middel van een z.g. druppelteller) dat per minuut uitvloeit. Is het z.g. druppelgetal na eenigen tijd constant geworden (dikwijls duurt het vrij lang voor dit het geval is), dan wordt in de naar de aorta voerende caoutchouc slang een kleine hoeveelheid adrenaline gespoten, de contractie van de bloedvaten, die hiervan het gevolg is, manifesteert zich in een kleiner worden van het druppelgetal.

Wanneer men uiterst nauwkeurig werkt, kunnen op deze wijze zeer kleine hoeveelheden adrenaline quantitatief worden aangetoond. Het is dan echter noodig, een aantal voorzorgen in acht te nemen, die o.a. uitvoerig beschreven staan in een mededeeling van TRENDELENBURG [2]).

EIGER bepaalde nu eerst de hoeveelheid adrenaline, die juist subminimaal was, d.w.z. die juist geen verandering van het druppelgetal gaf. Daarna spoot hij dezelfde hoeveelheid adrenaline in + een kleine hoeveelheid van een of ander schildklierpraeparaat en hij bepaalde nu de dosis thyreoidine, die juist in staat was de werking der subminimale dosis adrenaline zoodanig te versterken, dan een duidelijke invloed op het druppelgetal werd uitgeoefend. Door controleproeven was uitgemaakt, dat de schildkliersubstantie zelf in de gebruikte concentraties zeker *geen* invloed op de vaatwijdte kan uitoefenen. EIGER vestigt er zeer den aandacht op, dat steeds na de inspuiting van adrenaline + thyreoidine nog een controle-inspuiting van adrenaline alleen moet volgen, om aan te toonen, dat de gevoeligheid van het praeparaat niet is veranderd. Spontane veranderingen in gevoeligheid voor adrenaline komen n.l. herhaaldelijk voor. Een voorbeeld van een bepaling volgens EIGER geeft tabel 11, die aan een mededeeling van EIGER is ontleend.

EIGER's methode is zeker uiterst gevoelig. Hij kon de verhooging van het gehalte aan thyreoidine in het bloed van met schildklier gevoede ratten en in het bloed van aan M. BASEDOWI lijdende patiënten ermee aantoonen. Of EIGER's werkwijze echter ook geschikt zal zijn voor practisch gebruik om er n.l. verschillende schildklier-praeparaten mede te ijken, zal nog moeten blijken.

---

1) M. EIGER. Der Biologische Nachweis der inneren Sekretion der Schilddrüse im Blute der mit Schilddrüsenextrakte gefütterten weissen Ratten. Zeitschr. f. Biol. Bd. 67, pag. 253. 1917.

2) P. TRENDELENBURG. Uber die Adrenalinkonzentration im Säugotierblut. Arch. f. exp. Path. und Pharmakol. Bd. 79. 154. 1915.

Tabel 11.

	Druppelgetal voor injectie.	Druppelgetal na injectie.
Adrenaline	22	22
Thyreoidine & adrenaline	22	6
Adrenaline	22	22
Contrôle.		
Thyreoidine & adrenaline	22	9
Adrenaline	22	22

* * *

Een kritiek op de hier genoemde methoden is moeilijk te geven, omdat — zooals boven uitvoerig is uiteengezet — nog niet bekend is, welke werking van thyreoidine-praeparaten met de werking, die men voor de therapie noodig heeft, overeenkomt.

Een oplossing van het vraagstuk der ijking van thyreoidine-praeparaten is dringend noodig, omdat ongetwijfeld naast de goede praeparaten ook in den handel slechte, d.w.z. onwerkzame, voorkomen. De hoofdzaak zal dus zijn, dat men in de toekomst in de eerste plaats tracht na te gaan — op de wijze zooals PICK en PINELES dat deden — of een praeparaat „überhaupt" de gewenschte schildklierwerking heeft, daarna moet dan worden onderzocht of het kan worden ontdaan van bestanddeelen, die ongewenschte werkingen hebben. Eerst als deze kwesties zijn opgelost, kan men ertoe overgaan, de bestanddeelen, die de gewenschte werking hebben, zoo nauwkeurig mogelijk quantitatief te bepalen, om dan tenslotte te onderzoeken, of één van de 5 besproken meer eenvoudige methoden de zeer tijdroovende methode van PICK en PINELES kan vervangen.

Tenslotte moet ik mij nog een opmerking veroorloven.

Bijna alle onderzoekers werken bij voorkeur mot schildklieren van het schaap, soms ook met die van geiten of koeien. De in den handel voorkomende thyreoidine-tabletten stammen ook meestal van de schildklieren van schapen. En nu schijnt men zeker te kunnen zijn (het was Dr. VERMEULEN, die hierop mijn aandacht vestigde) dat wanneer men bij een schaap de schildklier verwijdert, men in ruim 90% der gevallen de beide parathyreoideae internae ook mede neemt. De parathyreoideae internae zijn n.l. alleen microscopisch van het omliggende schildklierweefsel te onderscheiden. Schildkliertabletten bevatten dus steeds ook parathyreoid-substantie.

Het eenige dier, waarbij men gemakkelijk de schildklier kan uitsnijden zonder de parathyreoideae internae mede te nemen en dat tevens in aanmerking komt voor het verzamelen van materiaal, is het varken. Het zou dus zeker de voorkeur verdienen om — vooral bij experimenteel werk — voorloopig alleen gebruik te maken van de schildklieren van het varken. Merkwaardigerwijze wordt met dit punt — voor zoover ik weet — in de literatuur geen rekening gehouden.

HOOFDSTUK VII.

HET PHYSIOLOGISCHE ONDERZOEK VAN MENGSELS VAN NARCOTICA EN VAN LOCAAL-ANAESTHETICA.

Algemeene beschouwingen.

De narcotica en locaal-anaesthetica behooren bijna alle tot de chemisch goed gedefinieerde stoffen. Men zou dus verwachten, dat hierbij geen physiologisch onderzoek noodig is. Toch kan daar alle reden toe zijn.

Physiologisch onderzoek van een chemisch zuivere stof kan in de eerste plaats noodig zijn, indien twijfel rijst of een bepaald medicament, al is het voor zoover men kan nagaan chemisch zuiver, wel de volle physiologische werking heeft. Dit zal bijv. kunnen vóórkomen, indien een fabriek begint een nieuw geneesmiddel in het groot te bereiden, zoodat nog niet geheel en al bekend is, welke schadelijke producten zijn te verwachten. Toen een der groote fabrieken ertoe overging narcose-aether te bereiden, werd mij bijv. gevraagd het physiologische experiment te verrichten. En daarbij kon met zekerheid worden aangetoond [1]), dat deze aether geen stoffen bevatte, die voor hart en ademcentrum van een warmbloedig dier meer schadelijk zijn dan geheel zuivere aether.

Een dergelijk onderzoek zou zeer op zijn plaats zijn, indien men wilde controleeren of een waarneming juist is, die W. Hudson blijkens een mededeeling in de *Medical Record* van 16 Maart j.l. (zie referaat Ned. Tijdschrift v. geneesk. 1918, 2e helft, pag. 329) deed. Daar wordt n.l. medegedeeld, dat aether geen narcoticum is en de narcotische werking van narcose-aether berust op bijmengsels o.a. aethyleen.

Verder bestaat de mogelijkheid, dat stoffen, zooals scopolamine of morphine als volkomen zuiver product worden afgeleverd, maar dat, nadat deze stoffen eenigen tijd in oplossing zijn bewaard gebleven, twijfel rijst of de werkzaamheid ervan nog wel dezelfde is. Ook dan kunnen dierproeven goede diensten bewijzen.

---

1) W. Storm van Leeuwen. Over physiologische waardebepalingen VI. Narcotica. Pharmaceut. weekblad, No. 51. blz. 1470. 1917.

Maar behalve deze gevallen, waarin als uitzondering de physiologische methode te hulp moet komen, is er een heel gebied, waar deze methode den doorslag zal moeten geven.

Al jaren lang heeft men steeds weer gemeend gevallen waar te nemen, waarin een mengsel van twee stoffen een sterker werking heeft, dan men op grond van de werking der samenstellende deelen zou verwachten. Het is vooral Bürgi, die op dit verschijnsel — door hem „potentieering" genoemd — zeer de aandacht heeft gevestigd.

Nu komt „potentieering" bij het gebruik van een combinatie van geneesmiddelen lang niet zoo veelvuldig voor, als men op grond van een aantal opgaven in de literatuur wel zou vermoeden [1]) maar niet ontkend kan worden, dat het verschijnsel inderdaad bestaat. Waar nu de potentieering vooral een rol speelt bij het gebruik van mengsels van narcotica en locaal-anaesthetica en waar juist voor deze groepen van geneesmiddelen goede methoden bestaan om de werking van mengsels nauwkeurig te bestudeeren, daar meende ik, dat deze methoden — hoewel niet zijnde echte physiologische waardebepalingen — in dit boek behoorden te worden opgenomen.

Dat alleen het onderzoek naar de werking van mengsels van narcotica en locaal-anaesthetica wordt besproken met uitsluiting van andere geneesmiddelen is een willekeurig iets, want ook bij andere geneesmiddelen komt potentieering voor. Maar het wordt verontschuldigd :

1e. door het feit, dat het potentieeringsvraagstuk voor de narcotica en locaal-anaesthetica bij uitstek gewichtig is en hoofdzakelijk voor deze groep van geneesmiddelen op ruime schaal is onderzocht en in de practijk tot practische consequenties heeft aanleiding gegeven en 2e door de omstandigheid dat wij in het pharmacologisch instituut te Utrecht juist omtrent deze methoden over eigen ervaring beschikken.

Zooals boven reeds werd opgemerkt, meen ik, dat vele van de gevallen van z.g. potentieering welke gepubliceerd zijn, tegen critiek geen stand kunnen houden, maar wat er aan materiaal overblijft, is voldoende om de uitspraak te wettigen, dat men een geheel nieuwe combinatie van narcotica niet in de therapie behoort in te voeren alvorens men — al is de pharmacologische werking van de samenstellende deelen volkomen bekend — ook nog met physiologische methoden de werking van het *mengsel* nauwkeurig quantitatief heeft onderzocht.

***

---

1) Zie W. Storm van Leeuwen. Over het gebruik van samengestelde geneesmiddelen. Ned. Tijdschr. v. geneeskunde 1917, 2e Helft, pag. 957.

Narcotica.

Bij het quantitatief onderzoek naar de werking van narcotica, dus van stoffen, die vooral om haar verlammende werking op het centraal zenuwstelsel in de therapie worden benut, moet als criterium voor de werking natuurlijk deze invloed op het centraal zenuwstelsel worden genomen. Nu is de functie van het centraal zenuwstelsel uiterst gecompliceerd en de verschillende narcotica werken bovendien op verschillende deelen van het centraal zenuwstelsel niet in gelijke mate in. Er moest dus gezocht worden naar een eenvoudig in getallen uit te drukken criterium voor de werking der narcotica en dit vraagstuk bleek voor oplossing vatbaar te zijn, indien men onderzocht den invloed van het narcoticum op den eenvoudigen ruggemergreflex. Dit onderzoek was mogelijk geworden, omdat Sherrington twee methoden had gevonden, het decapiteeren en het decerebreeren van dieren, waardoor men in korten tijd en op eenvoudige wijze een voortreffelijk reflex-praeparaat verkrijgt.

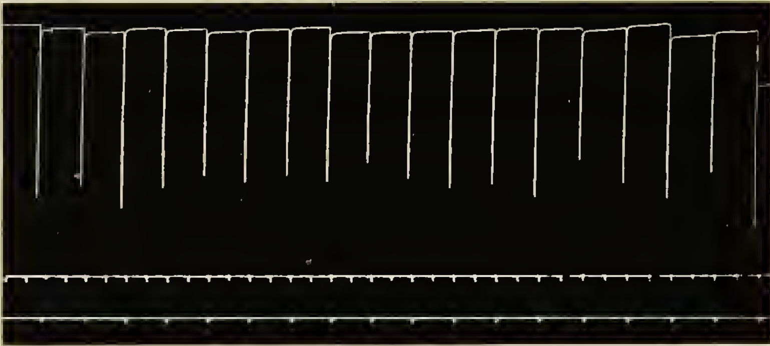
Bij het decerebreeren van een dier gaat men als volgt te werk. Eerst worden in diepe narcose de beide halsslagaderen van het dier onderbonden, dan wordt, terwijl een assistent tijdelijk de beide art. vertebrales tusschen eersten en tweeden halswervel afklemt, het schedeldak geopend en worden de groote hersenen — en daarbij gewoonlijk ook de thalami en de middenhersenen — verwijderd. Na de decerebratie ademt het dier meestal spontaan; voor alle zekerheid echter wordt kunstmatige ademhaling toegepast, terwijl bovendien door verwarming van de plank, waarop het dier ligt, gezorgd wordt, dat het niet te veel afkoelt.

Bij de decapitatie worden eveneens eerst de halsslagaderen afgebonden; daarna tusschen eersten en tweeden halswervel een stevige ligatuur gelegd, die beide art. vertebrales comprimeert; vervolgens wordt door een snede tusschen den schedel en den eersten halswervel de kop van den romp verwijderd. Natuurlijk is hierbij steeds kunstmatige ademhaling en kunstmatige verwarming noodig. Een dergelijk gedecerebreerd of gedecapiteerd dier (voor de decerebratie worden honden, katten en konijnen gebruikt, voor de decapitatie uitsluitend katten) vertoont korten tijd na het afstellen van de narcose reeds levendige reflexen. Na één à twee uur is, zooals na herhaalde controleproeven bleek, de aether, die bij de beginnarcose gebruikt was, zoo goed als geheel uit het lichaam verdwenen. Het praeparaat kan dan dus voor onderzoek naar de werking van verschillende narcotica gebruikt worden en blijft geruimen tijd goed prikkelbaar. Men kan door prikkeling van een bepaalde sensibele zenuw — meestal nervus peroneus — b.v. een gelijkzijdigen buigreflex opwekken. Door het achterbeen van het dier met een draad, die over een katrol loopt, met een hefboom te verbinden, kan men deze reflexen op een kymographion registreeren. Uit vroegere onderzoekingen was gebleken, dat, wanneer men elke minuut met een faradischen prikkel van dezelfde intensiteit prikkelt, men geruimen tijd lang, soms zelfs langer dan een uur, reflexen van dezelfde grootte kan verkrijgen. Dit wetende, kan men dus de werking van een narcoticum bestudeeren, door, nadat eenige normale reflexen geregistreerd zijn, het narcotium aan het dier toe te dienen. Dit toedienen van narcotica geschiedt voor niet vluchtige stoffen altijd door intraveneuze inspuiting. Subcutane inspuitingen zijn uitgesloten, omdat door de veranderde circulatieverhoudingen bij het gedecerebreerde dier de resorptie der vergiften bij onderhuidsche inspuiting geheel anders is dan bij normale dieren. De hoeveelheid van het geïnjiceerde gift wordt steeds per K.G. dier berekend. Vluchtige narcotica worden door middel van de kunstmatige ademhaling toegevoerd.

Zijn de reflexen, nadat het narcoticum ingewerkt heeft, tot op het gewenschte niveau

gedaald, dan wordt snel de luchtpijp van het dier afgeklemd en bloed uit de carotiden of uit het hart ontnomen en in dat bloed het gehalte aan aether of chloroform bepaald. Hierbij werd gebruik gemaakt van de methoden van NICLOUX, in latere proeven voor aether van de methode van LE HEUX. Nog moet worden vermeld, dat nooit uit één proef conclusies worden getrokken, maar steeds het gemiddelde uit een serie wordt genomen, zooals dat bij physiologische proeven altijd noodig is. Een voorbeeld van een dergelijke proef geeft fig 26.

Fig. 26.
Homolaterale buigreflex bij gedecapiteerde kat.



Onderste lijn: signaal-prikkeling met enkelen inductieslag.
Middelste lijn: tijd in halve minuten. De reflexen blijven gedurende 9 minuten op gelijke hoogte (normaalperiode).

Om het overzicht te vergemakkelijken. wordt na afloop van de proef steeds de curve uitgemeten en het verloop van de proef graphisch voorgesteld op een wijze, zooals b.v. in fig. 27 voor een chloroformproef is geschied en waarbij steeds de grootte van den reflex der normaalperiode als circa 100 wordt aangenomen. Het is dan mogelijk in een dergelijke graphische voorstelling te zien, hoeveel procent de reflexen door een bepaald narcoticum kleiner worden. Wordt met den toevoer van het narcoticum opgehouden, dan wordt de reflex — althans wanneer het vluchtige narcotica betreft, die snel uit het lichaam verwijderd worden — weer grooter en kan, zooals ook in fig. 27 het geval is, weer de oorspronkelijke hoogte bereiken. Een voorbeeld van een chloroformproef waarbij eerst de reflexen na de chloroform zijn verdwenen en na afstellen van den chloroformtoevoer weer gedeeltelijk zijn teruggekeerd geeft fig. 28.

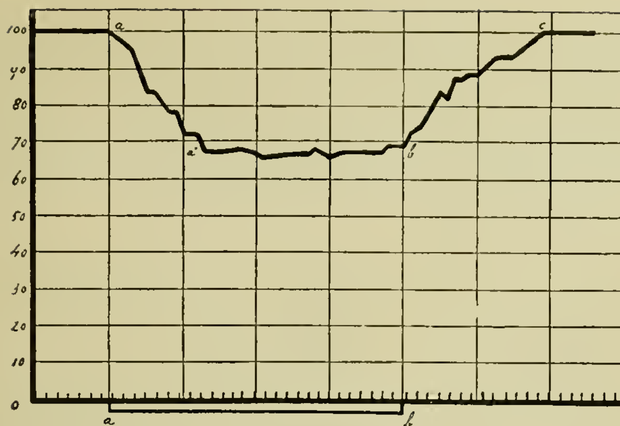
Bij het doen van dergelijke proeven heeft men nu in hoofdzaak twee bronnen van fouten. De eerste is deze, dat de reflexen bijna steeds in het verloop van een proef, ook wanneer men geen narcoticum geeft. spontaan wat kleiner worden en ten tweede, dat gedurende de proef het type van den reflex verandert, hetgeen moeilijkheden geeft bij het uitmeten.

Wij hebben getracht, deze moeilijkheden te ontgaan.

Het kleiner worden van de reflexen kan veroorzaakt worden door een daling van de temperatuur van het dier. Uit speciaal hierop ingerichte proeven bleek, dat, zoolang de temperatuur tusschen 37° en 35°, hoogstens 34° blijft, de invloed van de temperatuur gering is. Dan bleek verder, dat het plaatsen van een electrische lamp boven het dier — wat wij dikwijls deden, om het dier te verwarmen — de reflexen kleiner doet worden. Twee methoden, om de lichaamstemperatuur langen tijd standvastig te houden, zijn door ons in het *Nederlandsch Tijdschrift voor Geneeskunde* 1916, I helft, blz. 1174 beschreven.

Intusschen, het constant houden der temperatuur is geen afdoende maatregel

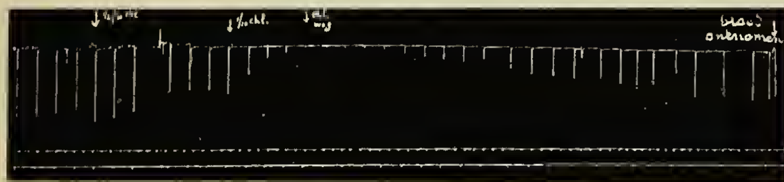
Fig. 27.



Abcis : tijd in minuten.
Ordinaat : hoogte van den reflex.
Bij *a* chloroform gegeven.
Van *a'* tot b blijven de reflexen tot op 67$^1/_2$ pCt. van de oorspronkelijke hoogte.
Bij *b* chloroform weg.
Bij c reflexen weer normaal.

Fig. 28.

Buigreflexen bij de gedecapiteerde kat.



Hefboom naar beneden: buiging van het achterbeen. Bij de eerste ↓ wordt een kleine hoeveelheid chloroform gegeven, de reflexen worden kleiner, bij de tweede ↓ wordt de chloroformtoevoer versterkt, de reflexen verdwijnen. De narcose wordt daarna afgesteld, na korten tijd keeren de reflexen terug en als zij weer tot 70 % der oorspronkelijke hoogte zijn, wordt de proef afgebroken, het dier snel ontbloed en het gehalte aan chloroform in het bloed bepaald (0.0044 %). Middelste lijn: tijd in halve minuten. Onderste lijn: signaal voor prikkeling. Prikkel met enkelen inductieslag.

tegen het kleiner worden der reflexen; ook bij gelijk blijvende temperatuur worden ze dikwijls langzamerhand wat kleiner. Meestal geschiedt dit zoo langzaam, dat het geen of weinig invloed heeft, omdat bij de meeste narcotica in 10 minuten of ¼ uur het maximale effect verkregen is en gedurende een dergelijk korten tijd kan men de reflexen gemakkelijk gelijk houden. Veel moeilijker werd de zaak, toen wij bij konijnen de werking van scopolamine-morphine wilden ondorzoeken. Ten eerste zijn gede-

cerebreerde konijnen ten opzichte van het kleiner worden der reflexen veel gevoeliger dan katten en ten tweede laat het effect van een scopolamine- of morphine-inspuiting, ook al is deze intraveneus geschied, lang op zich wachten, zoodat een dergelijke proef soms wel een uur duurt. Wanneer dan na verloop van een uur de reflexen eenige tientallen procenten kleiner zijn geworden, is het zeer moeilijk, om uit te maken, of dit door den invloed van het narcoticum is geschied, dan wel of de reflexen spontaan in grootte zijn afgenomen. Wij hebben dus bij deze proeven nog eens in het bijzonder onze aandacht aan dit kleiner worden der reflexen gewijd en ten slotte is het ons gelukt, een reeks van proeven te krijgen, waarbij de reflexen gedurende 40 minuten slechts 9% in grootte afnamen. Nadat dit gelukt was, kon met volkomen zekerheid het scopolamine-morphine-onderzoek bij dergelijke dieren worden verricht. Op het resultaat hiervan komen wij nog terug.

Bij deze proeven bleek nu, dat het kleiner worden der reflexen voorkomen kan worden, wanneer men 1e zorgt, dat de sensibele zenuw, die geprikkeld wordt, om de reflexen op te wekken, in het geheel niet door de electrode gedrukt wordt, daar dan de geleidbaarheid voor den prikkel sterk afneemt en men 2e zeer sterke prikkels vermijdt en liefst slechts om de 2 of 3 minuten prikkelt.

De tweede moeilijkheid, die boven genoemd werd, is het veranderen van het type van de reflexen gedurende de proef. De gelijkzijdige buigreflex is nog een zeer gecompliceerde reactie; een groot aantal spieren doen hierbij haar invloed gelden. Nu heeft het bij de opstelling, die wij kozen, grooten invloed op de uitslagen van den hefboom, of b.v. de buiging van een achterbeen hoofdzakelijk in het knie- dan wel in het heupgewricht plaats heeft, zoodat een verandering van de uitslagen van den hefboom niet per sé afhankelijk behoeft te zijn van verandering van de grootte van den reflex. Wanneer alleen wordt nagegaan, hoeveel van een bepaald narcoticum moet worden gegeven, om een reflex geheel to doen verdwijnen, komt deze laatste fout — het veranderen van type — natuurlijk niet in aanmerking. Anders is het, wanneer men weten wil, hoeveel procent een reflex na toediening van een bepaalde hoeveelheid narcoticum in grootte afgenomen is. Dan moeten natuurlijk alle fouten zooveel mogelijk vermeden worden en dan wordt niet een reflex van den geheelen achterpoot geregistreerd, maar dan wordt een zoogenaamd geïsoleerd spierpraeparaat gemaakt. Hiertoe worden b.v. alle spieren en zenuwen, die tot één achterbeen behooren, doorgesneden, behalve één zenuw, die dient om te prikkelen en één spier met haar motorische innervatie. Het eene uiteinde van die spier, b.v. het kniegedeelte van de m. rectus femoris, wordt dan met den hefboom verbonden en op die wijze wordt een veel meer eenvoudige reflex geregistreerd. Curven, die met een dergelijk praeparaat zijn gemaakt, hebben een zeer regelmatig verloop.

***

Het spreekt van zelf, dat het in verschillende gevallen gewenscht is, niet alleen de werking op één reflexcentrum, maar ook de werking op andere centra te onderzoeken. Een van de centra, die hiervoor in aanmerking komen, is b.v. het ademcentrum, daar de werking der narcotica op dit centrum van zeer groot belang is. Zoo hebben wij voor een aantal dieren bepaald, hoeveel aether of chloroform in het bloed aanwezig was, wanneer ze zoo diep genarcotiseerd waren, dat juist ademstilstand was opgetreden. In de literatuur waren hieromtrent reeds gegevens bekend, maar daar de manier, waarop genarcotiseerd wordt, grooten invloed heeft, moesten wij eerst getallen bepalen, die voor de door ons gebruikte methode geldig waren.

Voor dit doel bleken proeven op jonge honden uiterst geschikt. De dieren werden eerst onder een glazen klok genarcotiseerd, dan opgespannen, waarna tracheotomie

verricht werd. Dan werd een, in de luchtpijp ingevoerde, canule verbonden met een complex van eenige buizen en 2 flesschen (MÜLLER-ventielen), die zóó ingesteld waren, dat de inademingslucht door de aether of de chloroform streek en de weerstand bij de inademing zoo gering mogelijk was. Afwisselend lieten wij nu de dieren door een zijbuis gewone lucht of door de MÜLLER-ventielen aether- of chloroformhoudende lucht inademen en langzamerhand werd de narcose dieper gemaakt, tot juist ademstilstand optrad; dan werd de luchtpijp afgeklemd, de borstkas geopend en bloed uit de vena cava superior ontnomen. In dat bloed werd dan, evenals in het arterieele bloed en in verschillende organen, het aether- of chloroformgehalte bepaald. Deze methode is zeer nauwkeurig, zooals uit tabel 12 en 13 blijken kan. De afwijking van het gemid-

Tabel 12.

Jonge honden. Ademstilstand. Aether.

Proef No.	Aethergehalte in gew. proc.					
	Arterieel bloed.	Veneus bloed.	Hersen-stam.	Rugge-merg.	Hart.	Nier.
70	0,139	0,125	0,125	0,115	0,085	0,085
72	0,138	0,137	0,140	0,123	—	0,121
73	0,139	0,148	0,158	—	0,110	—
74	0,131	0,138	0,180	0,165	0,118	0,106
75	0,162	0,147	0,175	0,120	0,117	0,106
Gemiddeld	0,142	0,139	0,156	0,131	0,108	0,105

Tabel 13.

Jonge honden. Ademstilstand. Chloroform.

Proef No.	Chloroformgehalte in gew. proc.					
	Arterieel bloed.	Veneus bloed	Hersen-stam.	Rugge-merg.	Hart.	Nier.
61	—	0,037	0,070	0,0570	0,043	0,048
62	—	0,036	0,0678	0,0488	0,043	0,037
63	—	0,038	—	0,0495	0,047	0,041
66	0,044	0,0375	0,060	0,0500	0,044	0,041
68	0,053	0,034	0,073	0,0500	0,056	0,054
Gemiddeld	0,048	0,037	0,068	0,051	0,047	0,044

delde gehalte aan aether of chloroform, die men op die wijze in verschillende proeven vindt, is gering, n.l. in het veneuze bloed voor aether ca. 15%, voor chloroform slechts ca. 12% en wanneer men het zelfde narcoticum telkens op een groep van drie jonge honden onderzoekt, vindt men tusschen de gemiddelden van die proeven slechts verschillen van enkele percenten. Dit maakt, dat deze methode zeer geschikt is, om, wanneer dit om redenen, die boven vermeld zijn, noodig is, narcose-aether of narcose-chloroform physiologisch te onderzoeken. Blijkt n.l., dat men bij honden

precies dezelfde waarden vindt, die wij met narcotica, die zonder twijfel goed waren, gevonden hadden, dan kan men zeker zijn, dat de onderzochte aether of chloroform geen stoffen bevatten, die voor het ademcentrum giftiger zijn dan zuivere aether of zuivere chloroform, want was dat het geval, dan hadden de gevonden waarden *lager* moeten zijn. Bovendien krijgt men nog globaal een indruk van de werking van aether en chloroform op het hart, want als met een goed narcoticum gewerkt wordt, zal als regel, wanneer ademstilstand optreedt, het hart juist nog kloppen. Is dit bij het te onderzoeken narcoticum niet het geval, dan kan men vermoeden, dat het schadelijker werkt op het hart dan een goed narcoticum dit doet. Natuurlijk moet men dan een uitvoeriger onderzoek hieromtrent verrichten.

Bevat een narcoticum *veel* stoffen, die een prikkelende werking op de luchtwegen hebben, dan zal dit bij een dergelijk onderzoek ook blijken; kleine hoeveelheden kunnen op deze manier bij dieren natuurlijk niet worden aangetoond.

Met de hier beschreven methoden, soms naar omstandigheden eenigszins gewijzigd, hebben wij de werking van aether en chloroform nauwkeurig bestudeerd en daarna kon de werking van mengsels dezer beide narcotica worden onderzocht, waarbij bleek, dat een zoogenaamde potentieering, dat wil dus zeggen een onderling versterkende werking, dezer narcotica, hierbij *niet* bestond. Het zelfde resultaat verschafte ons een onderzoek over de werking van scopolamine-morphine op de ruggemergsreflexen bij konijnen en over de urethaan-morphine- en de urethaan-tinctura opii-narcose bij konijnen, terwijl Le Heux voor de mengsels magnesiumsulfaat-urethaan, magnesiumsulfaat-aether en magnesiumsulfaat-chloralhydraat eveneens kon aantoonen, dat van een potentieering, zooals die voor anderen gevonden was, geen sprake was. Ten slotte zij vermeld, dat men zich ter oriënteering omtrent een nieuw geneesmiddel, dus waar het alleen qualitatief onderzoek geldt, met minder gecompliceerde methoden kan tevreden stellen. Men kan dan bij intacte dieren het narcoticum inspuiten en de werking op den algemeenen toestand van het dier, op reflexen — knijpreflex, cornea-reflex, enz. — nagaan. Bürgi e.a. hebben van deze methode ook voor quantitatieve doeleinden gebruik gemaakt en zijn daarbij, o.a. omdat de kriteria voor de diepte der narcose niet met voldoende scherpte gesteld kunnen worden, dikwijls tot verkeerde resultaten gekomen.

Locaal-anaesthetica.

Evenals de narcotica behooren ook de locaal-anaesthetica tot de stoffen, waarvan de chemische samenstelling volkomen bekend is. Een physiologisch onderzoek naar de werking van deze stoffen is dus alleen noodig, indien mengsels ervan in gebruik zullen worden genomen en reden bestaat om te vermoeden, dat het mengsel een andere werking zou hebben, dan overeenkomt met de werking der samenstellende deelen. — Dat iets dergelijks — een potentieering dus — inderdaad bestaat, is o.a. uit onderzoekingen van Zorn duidelijk gebleken.

v. ISSEKUTZ [1]) had reeds vroeger op grond van proeven op kikvorschen meegedeeld, dat combinaties van antipyrine met cocaine, eucaine en novocaine en van eucaine met novocaine het verschijnsel van potenticering vertoonden. ZORN [2]) die met nauwkeuriger methode gewerkt heeft, heeft hem dit later bestreden. Hij vond echter in andere gevallen *wel* een potentieering n.l. bij mengsels van cocaine – $K_2 S O_4$, van novocaine – $K_2 S O_4$ en van cocaine – KCl. Bij novocaine — K Cl echter werd een eenvoudige additie gevonden, eveneens bij combinatie van novocaine en cocaine met $K NO_3$.

Den BESTEN heeft naar aanleiding van ZORN's proeven in ons laboratorium de combinatie cocaine – K Cl met ZORN's methode onderzocht en vond eveneens een potentieering. SOLLMANN [3]) onderzocht den invloed van een aantal locaal-anaesthetica en van combinaties op de motorische- en op de sensibele zenuw bij den kikvorsch en kon aantoonen, dat op de motorische zenuw *wel* een potentieering en op de sensibele zenuw geen potentieering plaats vindt bij combinaties van cocaine, novocaine enz. met KCl.

Het is dus wel zeker, dat bij combinaties van locaal-anaesthetica potentieering optreden kan, wat ook in overeenstemming is met de klinische ervaringen van den laatsten tijd. Een onderzoek in deze richting is dus noodig, wanneer men een nieuw mengsel in gebruik wil nemen.

Van de methoden, die hierbij in aanmerking komen, is zeker de meest rationeele, die welke door BRAUN en zijn medewerkers wordt benut [4]).

Hierbij wordt bij den mensch een intracutane inspuiting van een isotonisch gemaakte oplossing van het te onderzoeken locaal-anaestheticum verricht en de aard en uitgebreidheid van de gevoelloosheid, die in de door de injectie ontstane „Quaddol" optreedt, als criterium voor de werking genomen. Dit criterium valt dus geheel samen met de aanwending van het geneesmiddel voor klinische doeleinden en wat dit betreft is de methode dus zeer rationeel. Het schijnt ook, dat men er goede resultaten mee bereiken kan. Nauwkeurige gegevens over de techniek vindt men o.a. bij FÜHNER [5]).

Bij de genoemde methode wordt de terminale anaesthesie als toets voor de werking genomen; dit kan men ook doen door dierproeven.

Op zeer eenvoudige wijze kan men de locaal-anaesthetische eigenschappen van een vergift onderzoeken door het in de conjunctiva zak bij een dier in te druppelen en

1) B. v. ISSEKUTZ. Ueber den Synergismus der Lokalanaesthetica. Pflüger's Archiv. Bd. 145, p. 448. 1912.

2) L. ZORN. Beiträge zur Pharmacologie der Mischnarcose II. Combination der Lokalanaesthetica. Zeitsch. f. exp. Path. Bd. 12, p. 529. 1913

3) H. SOLLMANN. Comparative activity of local anesthetics I en II. Journ. of pharm. and exp. Therap. Vol. X, pag. 379. 1917 en vol. XI, pag. 1. 1918.

4) F. M. RECKE. Vergleichende experimentelle Untersuchungen localanaesthosierender Mittel. Inaug. Diss. Leipzig 1903.

5) FÜHNER. Nachweis und Bestimmung von Giften auf biologischem Wege. Berlin. 1911.

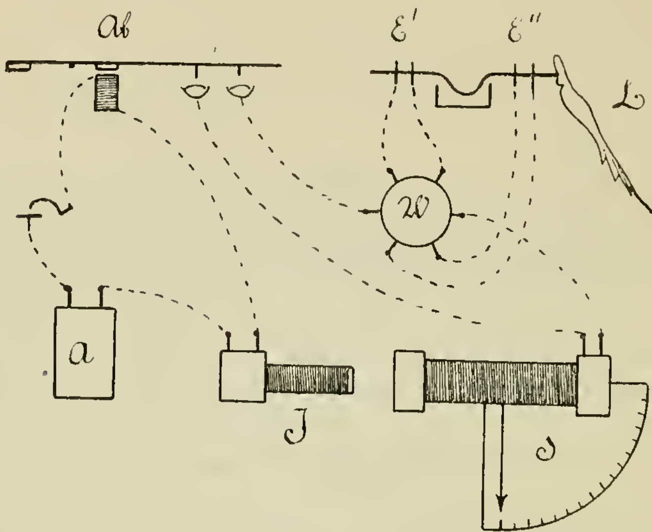
na te gaan welke de kleinste concentratie is, waarbij na een bepaalden tijd nog gevoelloosheid der cornea optreedt. Deze gevoelloosheid uit zich door het afwezig zijn van den corneareflex. Bij het opwekken van dezen reflex moet men er voor zorgen niet de ooghøren van het dier aan te raken, daar men dan ook een reflectorische sluiting van de oogleden krijgt, waardoor natuurlijk de beoordeeling onzuiver zou worden.

Evoneens kan bij het onderzoek van locaalanaesthetica het onderzoek geschieden door de techniek te volgen, die Türk indertijd heeft aangegeven.

Hierbij wordt gebruik gemaakt van het feit, dat een vertikaal gehangen kikvorsch reflectorisch den poot optrekt, wanneer men den voet van het dier gedeeltelijk dompelt in een bakje met zuur van voldoende concentratie. Om de werking van een locaalanaestheticum na te gaan, wordt eerst de poot in een oplossing hiervan gedompeld en daarna wordt met het zuur gecontroleerd of gevoelloosheid is opgetreden.

De methode is zeer onnauwkeurig. Ten eerste zal de kikvorsch herhaaldelijk spontane bewegingen maken. Dit kan men voorkomen door het dier te decerebreeren of te decapiteeren. Maar dan heeft men nog het nadeel, dat een deel van het locaalanaestheticum kan worden geresorbeerd en dan algemeene verschijnselen kan geven. Dit kan men tegengaan door de art. iliaca van den poot, waarmede men experimenteert, af te binden, maar ook dan nog blijft de methode weinig gevoelig. Daarom hebben een aantal onderzoekers de voorkeur gegeven aan een methode, waarvan het beginsel door Boehm [1]) is aangegeven en die o.a. ook door Zorn — in gewijzigden vorm — in zijn bovenvermeld onderzoek is benut. Zij zal aan de hand van fig. 29 die aan Zorn's mededeeling is ontleend worden beschreven.

Fig. 29.



Een kikvorsch wordt gedood en daarna een spierzenuw-praeparaat aan het dier ontnomen (M. Gastrocnemius—N. Ischiadicus). De zenuw wordt gedeeltelijk ondergedompeld in een ebonieten bakje, waarin zich een oplossing van het te onderzoeken locaal-anaestheticum bevindt. Op twee plaatsen n.l. peripheer en centraal van

1) Zie o.a. A. Laewen. Vergleichende Untersuchungen über die örtliche Wirkung von Kokain, Novokain Alypin und Stovain auf motorische Nervenstämme. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 56, pag. 139. 1907.

het ebonieten bakje wordt de zenuw langs een electrode [E′ en E″ uit fig. 29] gelegd. De electroden zijn verbonden met een inductorium I en door middel van een Poolsche wip W. kan beurtelings een inductieslag door electrode E′ of E″ worden geleid. Bij Ab. is nog een inrichting waardoor de sluitingsslag van het inductorium uitvalt, zoodat alleen met den openingsslag geprikkeld wordt.

De bedoeling van deze opstelling is duidelijk.

Nadat eerst door prikkeling met electrode E′ of E″ de prikkelbaarheid van de zenuw is onderzocht, wordt de zenuw in de vloeistof gedompeld en nu wordt telkens door prikkeling met E′ nagegaan of het vermogen om den prikkel te geleiden door het locaal-anaestheticum is opgeheven. Door te prikkelen met E″ kan worden gecontroleerd of niet om andere reden het praeparaat minder prikkelbaar is geworden. Natuurlijk wordt het spierzenuwpraeparaat met het ebonieten bakje en de electroden voortdurend in een vochtige kamer gehouden om uitdrogen van het praeparaat te voorkomen.

Met deze methode had ZORN vrij goede resultaten en ook den BESTEN kon met vrij groote nauwkeurigheid verschillende locaal-anaesthetica op deze wijze onderzoeken. De methode heeft het bezwaar, dat de snelheid, waarmede het locaal-anaestheticum indringt, van grooten invloed is, vooral als men — zooals ZORN doet — reeds na ½ uur een proef beslissend acht, bovendien wordt met deze methode alleen de invloed van het locaal-anaestheticum onderzocht op de prikkelgeleiding in de *motorische* zenuwvezels.

Men kan echter met dit toestel ook de geleiding voor prikkels in de *sensibele* zenuw onderzoeken. Men neemt dan een gedecerebreerden kikvorsch, legt aan een zijde de n.ischiadicus vrij en brengt het periphere stuk tusschen de electroden E′ en E″. Wordt nu geprikkeld, dan kan men aan het al- of niet optreden van een reflex in het intacte achterbeen beoordeelen of reeds de prikkelgeleiding in de sensibele vezels door het locaal-anaestheticum in het bakje is opgeheven.

SOLLMANN gebruikt ter beoordeeling van den invloed van het locaal-anaestheticum op de sensibele vezels een eenigszins andere methode.

Hierbij wordt een kikvorsch gedecapiteerd, daarna wordt de buikholte geopend en de ingewanden verwijderd. In de buikholte wordt nu een prop watten, die gedrenkt is in een oplossing van het te onderzoeken locaal-anaestheticum, gebracht en door het dompelen van een der voeten van den kikvorsch in $^1/_{10}$n. H. Cl. wordt telkens nagegaan of nog een reflex is op te wekken. Is de reflex verdwenen dan wordt door electrische prikkeling van den n.ischiadicus gecontroleerd of nog een contractie van de spier is op te wekken. Indien dit het geval is wordt aangenomen dat het verdwijnen van den reflex afhankelijk is van het opheffen der geleiding in de sensibele- en niet in de motorische zenuwvezels. Op deze wijze heeft SOLLMANN zijn onderzoekingen verricht, waarvan een deel der resultaten boven is medegedeeld.

Het zelfde principe, dus applicatie van het locaal-anaestheticum ergens in het verloop van een zenuw om daarna door het onderzoeken van de reflexen na te gaan of de geleiding voor sensibele prikkels is opgeheven, is ook voor onderzoek op warmbloedige dieren toegepast.

POTOTZKY [1]) legde bij konijnen een zenuw bloot, b.v. de n.ischiadicus en bracht daarop verschillende locaal-anaesthetica in substantie. Daarna werd de zenuw peri-

---

1) C. POTOTZKY. Arch. internat. de pharmacodyn. Vol. 12, pag. 129, 1903.

pheer van de plaats waar het vergift was aangebracht geprikkeld en op deze wijze beoordeeld (als criterium diende ook weer het verdwenen zijn der reflexen) of de geleiding voor sensibele prikkels was opgeheven.

De methode is in dezen vorm natuurlijk niet quantitatief omdat de concentratie van het vergift hierbij niet bekend is.

Deze fout ontging FROMBERG [1]) daar hij de zenuw met de oplossing van het locaal-anaestheticum in aanraking bracht en naging welke concentratie van het vergift juist nog in staat was om de geleiding van den prikkel geheel op te heffen. Een nadeel is dat zijn proefdieren te voren met morphine genarcotiseerd waren.

Vermoedelijk wordt de methode nauwkeuriger, wanneer men te voren de dieren decerebreert of decapiteert.

1) K. FROMBERG. Phenylurethanderivate als Lokalanaesthetica. Archiv. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 76, pag. 257. 1914.

STELLINGEN.

1. Bij het onderwijs in de geneeskunde behoort aan de pathologische physiologie een even groote plaats te worden ingeruimd als aan de pathologische anatomie.
2. Bij de behandeling van de chronische constipatie moet meer dan thans geschiedt, aandacht worden besteed aan de psychische therapie.
3. Bij het ontstaan van asthma bronchiale spelen stofwisselingsafwijkingen een grooten rol.
4. De begrippen „vagotonie" en „sympathicotonie", zoo als zij door EPPINGER en HESS zijn opgesteld, zijn onjuist.
5. Het mengsel van BILLROTH is een irrationeel narcoticum.
6. De door uitspuiten van den gehoorgang met koud water op te wekken nystagmus berust niet op een eenzijdige uitschakeling van het labyrint door het koude water.
7. De ontwerp-voedselkeuringswet behoort zoodanig te worden hierzien, dat gelegenheid bestaat om pharmacologische-. serologische- en bacteriologische onderzoekingen van voedingsmiddelen door- en onder toezicht van te dien opzichte deskundigen te doen verrichten.

8. Het is noodig dat van staatswege worde opgericht een instituut voor pharmaco-therapeutisch onderzoek van patentgeneesmiddelen.

9. Het is zeer gewenscht, dat van klinische zijde nauwkeurig worde onderzocht in hoeverre de verschillende in den handel voorkomende hypophysispraeparaten verschillen vertoonen in hun werking op den mensch.

10. Het intacte longepitheel is niet doorgankelijk voor ammoniak.

11. Het is bewezen, dat in het bloed van verschillende dieren vrije chemo-receptoren voorkomen.

12. Het is niet bewezen, dat de tonus der dwarsgestreepte spieren door de sympatische innervatie van BOEKE wordt onderhouden.

13. De opvatting van GOLDMANN, dat kleurstoffen, alcaloiden en andere vergiften slechts dan in het centraal zenuwstelsel kunnen binnendringen, indien zij eerst het epitheel van den plexus choreoideus beschadigd, en daardoor de beschuttende werking van dat epitheel opgeheven hebben, is volkomen onbewezen.

DATE DUE

DEMCO 38-297